

Boni Butir

**Odabrane biljne droge
tradicionalne kineske medicine –
5. dio: cvjetovi i zeleni (flores et herbae)**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, a izrađen je na Zavodu za farmakognoziiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Biljane Blažeković.

Zahvaljujem se svojoj mentorici docentici Biljani Blažeković na pruženoj prilici, stručnom vodstvu, temeljitim smjernicama i savjetima te strpljenju prilikom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.

SADRŽAJ

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 5 |
| 1.1. Tradicionalna kineska medicina..... | 5 |
| 1.2. Fitoterapija u okviru tradicionalne kineske medicine | 6 |
| 1.3. Monografije kineskih ljekovitih droga u Europskoj farmakopeji | 8 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME..... | 12 |
| 3. MATERIJALI I METODE..... | 13 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 14 |
| 4.1. Carthami flos (红花, Honghua)..... | 14 |
| 4.1.1. Opis biljke | 15 |
| 4.1.2. Fitokemijski sastav..... | 15 |
| 4.1.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 17 |
| 4.1.4. Farmakološki učinci..... | 17 |
| 4.1.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 21 |
| 4.2. Ecliptae herba (墨旱莲, Mohanlian) | 23 |
| 4.2.1. Opis biljke | 23 |
| 4.2.2. Fitokemijski sastav..... | 24 |
| 4.2.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 25 |
| 4.2.4. Farmakološki učinci..... | 25 |
| 4.2.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 27 |
| 4.3. Ephedrae herba (麻黄, Mahuang)..... | 29 |
| 4.3.1. Opis biljke | 29 |
| 4.3.2. Fitokemijski sastav..... | 30 |
| 4.3.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 30 |
| 4.3.4. Farmakološki i klinički učinci..... | 31 |
| 4.3.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 35 |
| 4.4. Magnoliae officinalis flos (厚朴花, Houphua) | 37 |
| 4.4.1. Opis biljke | 37 |
| 4.4.2. Fitokemijski sastav..... | 38 |
| 4.4.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 38 |
| 4.4.4. Farmakološki učinci..... | 38 |
| 4.4.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 42 |
| 4.5. Sophorae japonicae flos (Huaihua, 槐花)..... | 45 |
| 4.5.1. Opis biljke | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5.2. Fitokemijski sastav..... | 46 |
| 4.5.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 47 |
| 4.5.4. Farmakološki i klinički učinci..... | 47 |
| 4.5.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 50 |
| 4.6. Sophorae japonicae flos immaturus (Huaimi, 槐米)..... | 52 |
| 4.6.1. Opis biljke | 52 |
| 4.6.2. Fitokemijski sastav..... | 53 |
| 4.6.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u | 53 |
| 4.6.4. Farmakološki učinci | 53 |
| 4.6.5. Monografija droge u Ph. Eur. 8..... | 54 |
| 5. ZAKLJUČAK..... | 57 |
| 6. LITERATURA | 58 |
| 7. SAŽETAK/SUMMARY | 72 |

1. UVOD

1.1. Tradicionalna kineska medicina

Već nekoliko tisuća godina akupunkturne igle, ginseng i mnoge druge ljekovite biljke ozdravljaju dio svijeta koji danas nastanjuje četvrtina svjetske populacije, no većina zapadnog svijeta čula je za njih tek posljednjih četrdesetak godina. Tradicionalna kineska medicina (*eng.* Traditional Chinese medicine, TCM) jedan je od prvih sustava liječenja u svijetu koji se i danas naširoko provodi u praksi u Kini. Karakterizira je holistički pristup ljudskom organizmu i zdravlju utemeljen na starokineskim vjerovanjima te primjena niza različitih metoda u liječenju, među kojima središnje mjesto zauzimaju fitoterapija i akupunktura. (Beinfield i Efrem, 2011).

Za razumijevanje samih načela dijagnostike i liječenja, nužno je poznavati tri filozofske teorije na kojima počiva tumačenje fiziologije i patofiziologije ljudskog tijela u TCM sustavu. To su Teorija o Yinu i Yangu, Teorija pet elemenata i Teorija o Qi energiji. Prva teorija je ona koja govori da je cijeli svijet sastavljen od dvije suprotstavljene strane – Yina koji predstavlja ženu, noć, vlažnost, hladnoću, mjesec, desnu stranu te Yanga koji se odnosi na muškarca, dan, suhoću, vrućinu, sunce, lijevu stranu. Taj se dualni koncept primjenjuje i pri opisu ljudskog tijela pa tako razlikujemo Yin organe (mišići, kosti, unutarnji organi) od Yang organa (glava, leđa, vanjski dijelovi tijela, koža). Dvije strane međusobno su ovisne i ne mogu jedna bez druge, a njihova neravnoteža u ljudskom tijelu dovodi do stanja bolesti (Längler i sur., 2013). Teorija pet elemenata razvila se iz drevne kineske filozofije, a govori o ravnoteži između tijela i okoliša te o patofiziološkim i fiziološkim interakcijama između pojedinih organa. Qi je životna energija koja upravlja Yinom i Yangom, a opisuje se i kao Gibbsova slobodna energija prema zakonima termodinamike. Ona po tijelu putuje akupunkturnim kanalima koji vode do određenog organa te samim time može utjecati na njih. U kontekstu znanstvene medicine, Qi se može poistovjetiti sa signalnim procesima u tijelu poput fosforilacije/defosforilacije, signalizacije G-proteinom, cAMP sinteze i degradacije, otpuštanje iona kalcija i dr. (Adams i sur., 2013).

U sustavu TCM-a, bolest je uzrokovana neravnotežom u tijelu, obično kao rezultat previše Yina ili previše Yanga. Na primjer, prehlada može nastati zbog pretjerane izloženosti hladnom vlažnom vjetru. Hladnoća je tada uravnotežena vrućicom koja zagrije tijelo. Yin je u ovom slučaju vanjski utjecaj, a Yang (vrućica) rezultat endogenih tjelesnih procesa. Metode koje se koriste u liječenju usmjerene su na vraćanje sklada i ravnoteže Yina i Yanga u tijelu te

djeluju istovremeno na više organa i fizioloških procesa. U fitoterapiji to podrazumijeva da TCM liječnik nađe pravu biljnu formulu koja će vratiti sklad. Ostale metode liječenja uključuju dijetoterapiju, akupunkturu, niz energetskih metoda (akupresura, moksibustija, Tui-Na masaža) te vježbe za duh i tijelo (Tai Chi, Qi Gong) (Beinfield i Efrem, 2011).

1.2. Fitoterapija u okviru tradicionalne kineske medicine

Fitoterapija zauzima središnje mjesto u liječenju u sustavu tradicionalne kineske medicine. Dok povijesni podaci govore o uporabi više od 10,000 različitih ljekovitih biljaka, danas se u svakodnevnoj praksi koristi između 300 i 500 ljekovitih biljaka (Wang i Franz, 2015). Za razliku od fitoterapije uobičajene na Zapadu, ljekovite biljke se u TCM-u vrlo rijetko primjenjuju pojedinačno. Uglavnom se kombiniraju u višekomponentne smjese od 5 do 15 droga i zajedno čine jednu TCM formulu. U sastav formula mogu ulaziti i droge animalnog porijekla. Prilikom sastavljanja formula poštuje se hijerarhijsko načelo „vladar-ministar-pomoćnik-dostavljač“ (kin. *Jun-Chen-Zuo-Shi*). Tako svaka formula sadrži jednu ili više djelatnih droga koje liječe primarne simptome ili uzrok bolesti (*Jun*, vladar) te adjuvantne droge koje pojačavaju učinak *Juna* djelujući sinergistički (*Chen*, ministar). *Zuo* (pomoćnik) predstavljaju biljne droge koje neutraliziraju toksično djelovanje i umanjuju nuspojave *Juna* i *Chena*, dok *Shi* (dostavljač) omogućava uspješniju apsorpciju i dolazak do ciljnog organa. Dostavljač se odlikuje sposobnošću da usmjeri djelovanje biljne formule na specifičan organ ili kanal (Hempen i Fischer, 2009; Qiu, 2007). U slučaju da neka npr. *Chen* droga ima i ulogu *Shija*, on se u formulu ne dodaje. Prednost takvog kombiniranja leži u višestrukim terapijskim djelovanjima, ali i primjeni manje količine pojedinačnih droga što smanjuje mogućnosti neželjenih i toksičnih djelovanja.

Sukladno TCM-u, farmakološka djelovanja biljnih droga počivaju na njihovim energetskim obilježjima prema kojima je svaka droga jasno i jednoznačno klasificirana. Takva klasifikacija pruža nam podatke o njihovim svojstvima temperature, okusa, načina djelovanja i povezanošću s tjelesnim organima i kanalima. Preduvjet za racionalnu primjenu ljekovitih TCM droga jest poznavanje njihove klasifikacije (Hempen i Fischer, 2009). Temperatura je osnovno svojstvo biljnih droga. Upućuje na djelovanje pojedine droge na dinamiku Qi energije koja pak usporava ili ubrzava fiziološke procese u tijelu. Može se prikazati na vektorskoj skali od hladnog do vrućeg pri čemu droge hladnih svojstava usporavaju fiziološke procese i dovode do akumulacije Qi energije, dok one toplih i vrućih svojstava razbuktavaju i ubrzavaju Qi. Princip po kojem se koristi to svojstvo jest da se hladne bolesti liječe vrućim

ljekovitim drogama i obrnuto. Podjela droge na temelju okusa razlikuje ljute, slatke, neutralne, kisele, gorke i slane, ali i njihove kombinacije. Ona pak govori o mjestu djelovanja ljekovite droge, odnosno dubini njihove penetracije. Tako slane droge djeluju u najdubljim dijelovima tijela, stvaraju tekućinu, vlaže, djeluju laksativno, dok ljute droge djeluju na površini, otvaraju kanale, opuštaju, pokreću Qi. Okus koji droga zaista ima kada se kuša može i ne mora odgovarati ovoj klasifikaciji. Za razliku od svojstva temperature koje jednoznačno klasificira biljne droge, svojstvo okusa može imati više klasifikacija, npr. droga koja je istovremeno gorka, slatka i kisela (Hempen i Fischer, 2009). Ljekovite TCM droge karakterizirane su i prema jednom ili više organa ili specifičnih kanala na koje djeluju. Taj opis govori na koji organ droga primarno djeluje ili prema kojem tjelesnom kanalu ima afinitet. Djelovanje na specifičan organ je često u korelaciji s temperaturom droge, primjerice tople i vruće droge uglavnom djeluju na yang organe – slezenu, jetru, bubrege i srce. Posljednji tip klasifikacije jest prema načinu djelovanja biljne droge koje je u suštini kumulativno svojstvo temperature i okusa (npr. zaustavljaju povraćanje, hlade vrućinu, umiruju duh, reguliraju Qi, reguliraju krv, potiču probavu, jačaju i dr.). Glavni cilj primjene biljnih droga u terapiji je, jednako kao i kod drugih oblika liječenja u TCM-u, uspostava narušene ravnoteže između Yina i Yanga te omogućavanje normalnog protoka i jačanje Qi životne energije (Adams i sur., 2013).

Najčešći i najvažniji oblik primjene TCM biljnih formula je vodeni dekokt. Omogućuje brzu apsorpciju ljekovitih tvari i brze terapijske rezultate. Smatra se da je u njemu sadržan puni ljekoviti potencijal biljnih droga jer kuhanjem ne samo da se ekstrahiraju farmakološki aktivne sastavnice već se može potaknuti stvaranje novih spojeva koji djeluju sinergistički pa se tako poboljšava djelotvornost formule ili se pak neutraliziraju neželjeni i toksični učinci. Također se prilagodbom uvjeta pripreme dekokta mogu modificirati energetska svojstva droga pa tako biljne droge koje su po temperaturnoj klasifikaciji tople ili vruće primjenom u obliku ohlađenog dekokta poprimaju hladno svojstvo. Vrijeme kuhanja dekokta za većinu biljnih droga iznosi 20 minuta; školjke i minerali zahtijevaju duže kuhanje (1 sat), a listovi i cvjetovi samo 3 minute. Ukoliko biljne droge sadrže eterično ulje one se ne smiju kuhati već se u dekokt dodaju po završetku pripreme. Vrlo nježne droge kao i droge sa sluzi potrebno je prije kuhanja zamotati u pamučnu gazu. Obično se preporuča uzimanje toplog dekokta, 2 sata nakon jela. Ostali ljekoviti oblici uključuju praške, granule, tablete, ljekovita vina, masti i komprese. Prašci predstavljaju važan ljekoviti oblik u TCM-u jer omogućuju sporiju apsorpciju pa se koriste kada je potreban umjereniji i postepeniji nastup djelovanja. Također služe za pripravu tableta, kapsula, granula i masti (Hempen i Fischer, 2009).

1.3. Monografije kineskih ljekovitih droga u Europskoj farmakopeji

Budući da TCM naglašava jedinstvenost svakog čovjeka i potrebu za personaliziranim liječenjem u cilju postizanje optimalnog rezultata, sve je popularniji i u drugim kulturama. Kineska komora za uvoz i izvoz lijekova i medicinskih proizvoda od 2011. bilježi godišnji izvoz kineskih ljekovitih droga na europsko tržište u visini od 12 milijuna američkih dolara (Wang i Franz, 2015). Kako bi se osiguralo da takav značajan uvoz biljnog materijala u Europu bude siguran za primjenu, prepoznata je snažna potreba za utvrđivanjem normi kakvoće i izradom njihovih farmakopejskih monografija neophodnih za provjeru kakvoće. Postojanje službenih normi kakvoće važno je za sve dionike u prometu fitopreparata na europskom tlu, a također i za liječnike koji ih propisuju.

Program implementacije kineskih ljekovitih droga u Europsku farmakopeju započeo je 2005. godine odlukom Komisije Europske farmakopeje da na temelju postojećih monografija u Kineskoj farmakopeji (ChP) izrade nove monografije prilagođene europskim standardima, te je u tu svrhu 2008. osnovana Radna skupina od 18 znanstvenika. Sa zakonske strane, Direktivom 2004/24/EC Europskog parlamenta omogućeno je da se tradicionalni biljni lijekovi koji udovoljavaju preduvjetima o medicinskoj primjeni u svijetu dužoj od 30 godina i najmanje 15 godina u Europskoj Uniji, registriraju pojednostavljenim postupkom koji zahtijeva provjeru kakvoće i sigurnosti, dok se djelotvornost potkrijepljuje bibliografskom podacima o dugotrajnoj primjeni u praksi. Time je bitno osnažena potreba za obradom i prilagodbom kineskih monografija te izradom europskih monografija TCM biljnih droga (Wang i Franz, 2015).

S obzirom na procjenu da TCM liječnici u svojoj praksi uglavnom koriste od 300 do 500 ljekovitih biljnih droga, za početak je odabrano nešto više od 100 najčešće propisivanih i najvažnijih za europsko tržište. Među odabranim, prioritet za izradu monografija dan je onima za koje postoje podaci o toksičnosti, opasnostima od zamjene i patvorenja, prekomjerne terapijske doze i sl. Danas se vidi značajan napredak u obradi i implementaciji kineskih monografija s obzirom da u trenutno važećem osmom izdanju Europske farmakopeje nalazimo 43 monografije biljnih droga tradicionalne kineske medicine, čiji je popis prikazan na slici 1 (Wang i Franz, 2015).

| Broj monografije | Latinski naziv | Engleski naziv | Pinyin | Sinogram |
|------------------|--|--------------------------------------|-----------------------|-----------|
| 2432 | <i>Acanthopanax gracilistylis</i> cortex | Acanthopanax bark | wujiapi | 五加皮 |
| 2554 | <i>Amomi fructus</i> | Amomum fruit | sharen | 砂仁 |
| 2555 | <i>Amomi fructus rotundus</i> | Round amomum fruit | doukou | 豆蔻 |
| 2661 | <i>Anemarrhenae asphodeloides</i> rhizome | Anemarrhena asphodeloides rhizome | zhimu | 知母 |
| 2556 | <i>Angelicae dahuricae</i> radix | Angelica dahurica root | baizhi | 白芷 |
| 2557 | <i>Angelicae pubescentis</i> radix | Angelica pubescens root | duhuo | 独活 |
| 2558 | <i>Angelicae sinensis</i> radix | Angelica sinensis root | danggui | 当归 |
| 2435 | <i>Astragali mongholicus</i> radix | Astragalus mongholicus root | huangqi | 黄芪 |
| 2559 | <i>Atractylodis lanceae</i> rhizoma | Atractylodes lancea rhizome | cangzhu | 苍术 |
| 2560 | <i>Atractylodis macrocephalae</i> rhizoma | Atractylodes rhizome, largehead | baizhu | 白术 |
| 2561 | <i>Belamcandae chinensis</i> rhizoma | Belamcanda chinensis rhizome | shegan | 射干 |
| 2384 | <i>Bistortae</i> rhizoma | Bistort rhizome | quanshen | 拳参 |
| 2386 | <i>Carthami flos</i> | Safflower flower | honghua | 红花 |
| 2430 | <i>Citri reticulatae</i> epicarpium et mesocarpium | Mandarin epicarp and mesocarp | chenpi | 陈皮 |
| 2463 | <i>Clematidis armandii</i> caulis | Clematis armandii stem | chuanmutong | 川木通 |
| 2454 | <i>Coicis semen</i> | Coix seed | yiiren | 薏苡仁 |
| 2473 | <i>Dioscoreae oppositifoliae</i> rhizoma | Dioscorea oppositifolia rhizome | shanyao | 山药 |
| 2563 | <i>Drynariae</i> rhizoma | Drynaria rhizome | gusuibu | 骨碎补 |
| 2564 | <i>Ecliptae herba</i> | Eclipta herb | mohanlian | 墨旱莲 |
| 2412 | <i>Eucommiae</i> cortex | Eucommia bark | duzhong | 杜仲 |
| 2451 | <i>Ephedrae herba</i> | Ephedra herb | mahuang | 麻黄 |
| 2452 | <i>Fraxini rhynchophyllae</i> cortex | Fraxinus rhynchophylla bark | qinpi | 秦皮 |
| 2566 | <i>Isatidis radix</i> | Isatis root | banlangen | 板蓝根 |
| 2612 | <i>Lycii fructus</i> | Barbary wolfberry fruit | gouqizi | 枸杞子 |
| 2567 | <i>Magnoliae officinalis</i> cortex | Magnolia officinalis bark | houpo | 厚朴 |
| 2568 | <i>Magnoliae officinalis</i> flos | Magnolia officinalis flower | houpohua | 厚朴花 |
| 2383* | <i>Notoginseng</i> radix | Notoginseng root | sanqi | 三七 |
| 2727 | <i>Persicariae tinctoriae</i> folium | Indigo plant leaf | liaodaqingye | 蓼大青叶 |
| 2477* | <i>Piperis fructus</i> | Pepper | hujiao | 胡椒 |
| 2453* | <i>Piperis longi</i> fructus | Long pepper | bibo | 荜茇 |
| 2433 | <i>Polygoni multiflori</i> radix | Fleeceflower root | heshouwu | 何首乌 |
| 2475 | <i>Poria</i> | Poria | fuling | 茯苓 |
| 2439 | <i>Prunellae spica</i> | Common selfheal fruit-spike | xiakucao | 夏枯草 |
| 2434* | <i>Puerariae lobatae</i> radix | Kudzu vine root | gegen (yege) | 葛根(野葛) |
| 2483* | <i>Puerariae thomsonii</i> radix | Thomson kudzu vine root | fenge | 粉葛 |
| 2663 | <i>Salviae miltiorrhizae</i> radix et rhizoma | Salvia miltiorrhiza root and rhizome | danshen | 丹参 |
| 2385* | <i>Sanguisorbae</i> radix | Sanguisorba root | diyu | 地榆 |
| 2428 | <i>Schisandrae chinensis</i> fructus | Schisandra fruit | wuweizi (bei wuweizi) | 五味子(北五味子) |
| 2438 | <i>Scutellariae baicalensis</i> radix | Baical skullcap root | huangqin | 黄芩 |
| 2450 | <i>Sinomenii</i> caulis | Orientvine stem | qingfengteng | 青风藤 |
| 2639* | <i>Sophorae japonicae</i> flos | Sophora flower | huaihua | 槐花 |
| 2427* | <i>Sophorae japonicae</i> flos immaturus | Sophora flower-bud | huaimi | 槐米 |
| 2478* | <i>Stephaniae tetrandrae</i> radix | Fourstamen stephania root | fenfangji (hanfangji) | 粉防己(汉防己) |

Slika 1. Popis ljekovitih biljnih droga tradicionalne kineske medicine za koje su izrađene monografije u Europskoj farmakopeji (Ph. Eur. 8).

Nove, europske monografije kineskih biljnih droga pisane su u skladu s postojećim administrativnim stilom i tehničkim smjernicama, koristeći kao glavni izvor podatke iz Kineske farmakopeje (izdanja iz 2005. i 2010.), ali i publikacije *WHO monographs on*

selected medicinal plants te *Hong Kong Chinese Materia Medica Standards*. Njihova izrada nije podrazumijevala samo prijevod s kineskog na engleski jezik s obzirom da se u samoj strukturnoj organizaciji monografije Europske i Kineske farmakopeje značajno razlikuju (slika 2). Naime, monografije biljnih droga u Ph. Eur. obuhvaćaju samo norme kakvoće, sadržeći sljedeća poglavlja: *Definicija*, *Identifikacija*, *Ispitivanja* i *Određivanje sadržaja*. Monografije Kineske farmakopeje sadrže puno više podataka o biljnim drogama, poput metoda obrade, terapijskih svojstava, organoleptičkih svojstava, meridijanskog tropizma, djelovanja, indikacija, kontraindikacija, upozorenja, načina primjene i doziranja.



Ph Eur 8.0



ChP 2010

| Naslov monografije (engleski i latinski nazivi) | Naslov monografije (latinski, kineski i engleski nazivi) |
|--|---|
| DEFINICIJA Minimalni sadržaj % | Navedeno podrijetlo i mjesto sakupljanja |
| IDENTIFIKACIJA A. Morfološka botanička obilježja B. Mikroskopska botanička obilježja praška (s crtežom) C. TLC/HPTLC | OPIS Identifikacija (1) Mikroskopska ispitivanja (2) TLC (3) HPLC Voda Ekstraktibilne tvari |
| ISPITIVANJA Npr. voda, ekstraktibilne tvari, ukupni pepeo, teški metali, pesticidi, mikotoksini... | ODREĐIVANJE SADRŽAJA Priprema droge Obrada Značajke i okus Meridijanski tropizam Djelovanje i indikacije Kontraindikacije Primjena i doziranje Čuvanje |
| ODREĐIVANJE SADRŽAJA kvantitativni sadržaj za sastavnice s poznatom terapijskom aktivnošću, inaktivni ili analitički markeri (s računskim formulama) Reagensi | |

Slika 2. Razlike u sadržaju monografija Europske i Kineske farmakopeje.

Tijekom izrade Ph. Eur. monografija za kineske biljne droge uočena je nužnost uvođenja kineskih znakova (sinograma) i Pinyin imena radi boljeg snalaženja i razlikovanja kineskih biljnih vrsta od sličnih koje rastu na europskom tlu. S obzirom da Pinyin imena ukazuju na terapijski sustav kojem biljna droga pripada i da se njima kod propisivanja služi većina TCM liječnika, zaključeno je da bi uvođenje Pinyin imena u Ph. Eur. olakšalo rad ljekarnicima jer bi otklonilo nužnost korištenja ikakvih dodatnih priručnika. Stoga je odlučeno je da sinogrami i Pinyin nazivi budu, zajedno s latinskim i engleskim (francuskim) nazivima, navedeni u posebnoj poglavlju Europske farmakopeje koje donosi popis svih TCM droga (slika 1) (Wang i Franz, 2015).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tema ovog rada su ljekovite biljne droge koje imaju dugu tradiciju primjene u kineskoj medicini. Tradicionalna kineska medicina jedan je od najstarijih sustava liječenja u svijetu i najvećim se dijelom temelji na fitoterapiji, u čijoj se svakodnevnoj praksi u Kini danas koristi čak nekoliko stotina droga prirodnog porijekla. S obzirom na aktulni trend globalizacije, tradicionalna kineska biljna medicina danas postaje sve privlačnija širom svijeta, kako pacijenatima koji su u potrazi za učinkovitijim ljekovitim sredstvima, tako i znanstvenicima koji traže nove lijekove ili pak dokaze za utemeljenost tradicionalne primjene. Trenutna situacija u Europi jest takva da prosječni TCM liječnik koristi do 300 biljnih droga, a komercijalno dostupni dobavljači nude do 400 biljnih vrsta. U europskim TCM klinikama koristi se do 500 različitih kineskih biljnih droga (Wang i Franz, 2015). Uzevši sve navedene podatke u obzir, potrebno je izraditi još mnogo više kvalitetnih monografija da se zadovolje potrebe potrošača. Povod ovom istraživanju predstavlja sve veće zanimanje za neeuropske ljekovite biljke u europskim zemljama, čemu u prilog govori izrada i uvrštavanje 43-ju monografija biljnih droga tradicionalne kineske medicine u trenutno važeće osmo izdanje Europske farmakopeje (Ph. Eur. 8).

Cilj rada bio je teorijski istražiti šest odabranih ljekovitih kineskih biljnih droga i pružiti sveobuhvatni pregled njihovih biljnih izvora, tradicionalne primjene, najnovijih spoznaja o fitokemijskom sastavu, farmakološkom i kliničkom djelovanju. Rad je izrađen sa svrhom usvajanja novih znanja u području etnofarmakognozijske i procjene znanstvene utemeljenosti primjene istraživanih droga tradicionalne kineske medicine u suvremenoj fitoterapiji. Također se želio pružiti pregled zahtjeva farmakopejske kakvoće za te biljne droge na hrvatskom jeziku.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom radu provedeno je teorijsko istraživanje biljnih droga s dugom tradicijom primjene u kineskoj medicini. Odabrano je šest ljekovitih droga koje se dobivaju od zeleni ili cvjetova kineskih biljaka:

- 1) Carthami flos – Honghua, 红花
- 2) Ecliptae herba – Mohanlian, 墨旱莲
- 3) Ephedrae herba – Mahuang, 麻黄
- 4) Magnoliae officinalis flos – Houpohua, 厚朴花
- 5) Sophorae japonicae flos – Huaihua, 槐花
- 6) Sophorae japonicae flos immaturus – Huaimi, 槐米

Rad je nastao pregledom stručne literature i pretraživanjem znanstvenih i drugih baza podataka (PubMed, ScienceDirect, Scopus, Lexicomp). Kao ključne riječi u pretraživanju korišteni su latinski nazivi istraživanih biljnih droga i odgovarajućih biljnih vrsta: Carthami flos, *Carthamus tinctorius*, Ecliptae herba, *Eclipta prostrata*, Ephedrae herba, *Ephedra sinica*, *Ephedra* sp., Magnoliae officinalis flos, *Magnolia officinalis*, Sophorae japonicae flos, Sophorae japonicae flos immaturus, *Sophora japonica*.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Na temelju rezultata sustavnog pretraživanja i proučavanja relevantne stručne i znanstvene literature, u nastavku je dan pregled istraživanja šest odabranih biljnih droga koje se često koriste u fitoterapiji u okviru tradicionalne kineske medicine. Definirani su njihovi biljni izvori, način djelovanja i indikacije za tradicionalnu primjenu te sažeto prikazane dosadašnje znanstvene spoznaje o fitokemijskom sastavu, kao i pretkliničkoj i kliničkoj djelotvornosti. Kako je glavni preduvjet za sigurnu i djelotvornu primjenu biljnih droga u fitoterapiji njihova farmaceutska kakvoća, na hrvatski su jezik prevedene monografije aktualnog 8. izdanja Europske farmakopeje koje se koriste za provjeru kakvoće tih biljnih droga na području Europske unije.

4.1. Carthami flos (红花, Honghua)

Carthami flos (eng. Safflower flower) (slika 3) je kineska ljekovita droga koju čine osušeni cvjetovi biljne vrste *Carthamus tinctorius* L. (slika 4).



Slika 3. Carthami flos.

4.1.1. Opis biljke

Carthamus tinctorius L. (Asteraceae) je jednogodišnja, uspravna, razgranata biljka visoka 60-100 cm. Stabljika je bjelkasta i izbrazdana. Listovi su sjedeći, široko suličasti ili suličasto-dugoljasti, trnovito nazubljenog ruba, s perastom nervaturom. Cvat je sastavljen od 3-5 glavičastih cvatova koji dolaze na kratkoj stapci. Cvjetne glavice široke su 3-5 cm, okružene braktejama; vanjske brakteja u donjem dijelu su bjeličaste i završavaju zelenim nastavkom dok su unutarnje brakteje mnogo kraće, ovalne ili linearne, zašiljene i završavaju u 5-7 bodlji. Narančasto-crveni cvjetovi uzdižu se iznad unutarnjih brakteja, imaju vjenčić s 5 režnjeva i 5 prašnika. Cvijet ima neugodan miris i gorak okus. Plod je bijela, jajasta, četverobridna roška bez papusa. Biljka se naširoko uzgaja u Kini, ali i drugim azijskim zemljama (Kambođi, Indiji, Laosu, Vijetnamu, Bliskom istoku) (WHO, 1989).



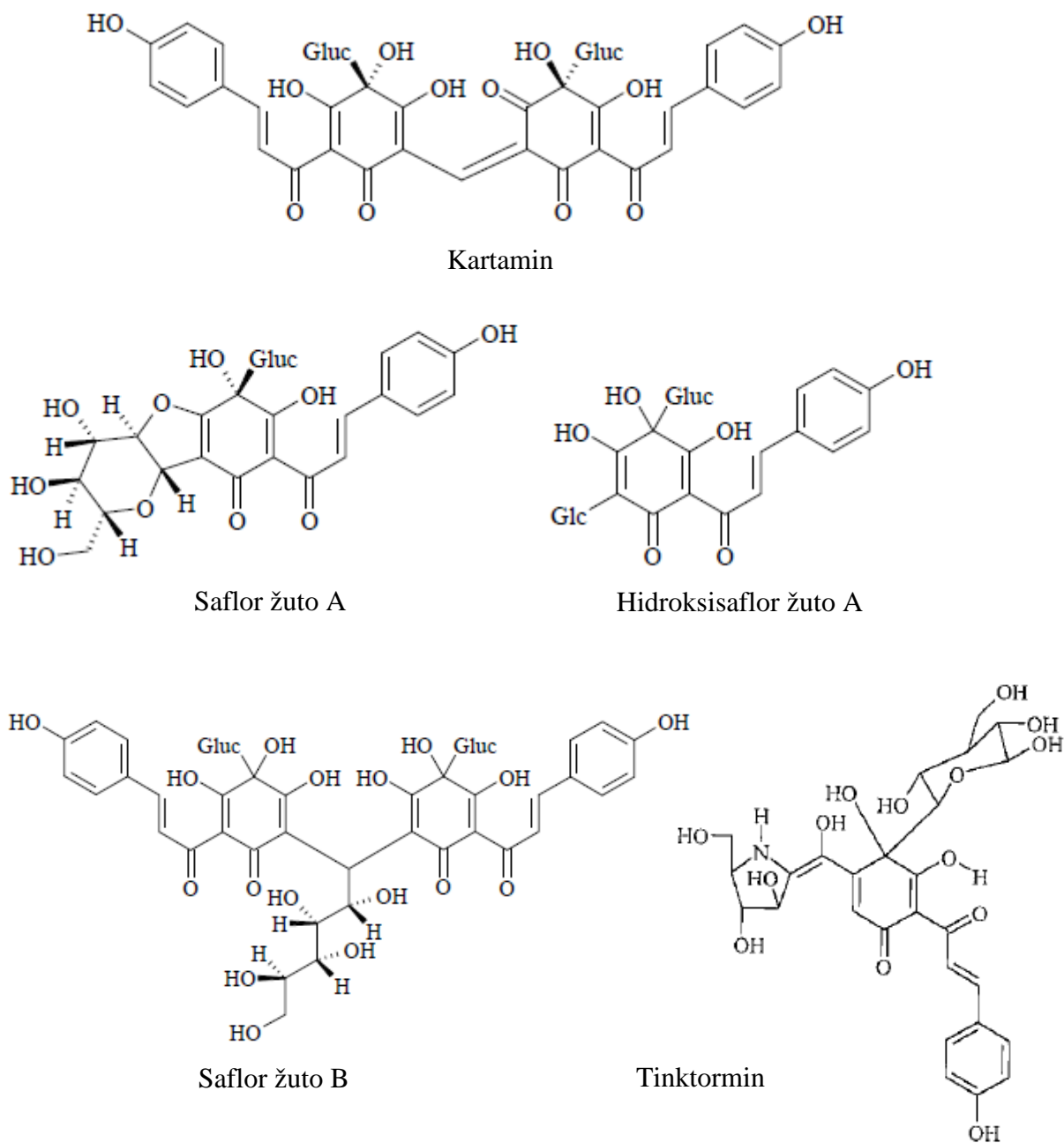
Slika 4. *Carthamus tinctorius* L. (Asteraceae)

(preuzeto s www.aphotoflora.com)

4.1.2. Fitokemijski sastav

Droga sadrži crvene i žute pigmente koji pripadaju skupini **kalkona i kinokalkona** (kartamin, izokartamin, kartamidin, izokartamidin, tinktormin, saflor žuto A, saflor žuto B, saflomin A, saflomin C, hidroksisaflor žuto A, anhidrosaflor žuto B, prekartamin), **flavonoide** (luteolin, luteolin-7-glukozid, neokartamin, kemferol, kvercetin, rutin, 6-hidroksikemferol-3-glukozid, 6-hidroksikemferol-7-glukozid, kemferol-3-rutinozid, kvercetin-3-glukozid), slobodne masne kiseline (laurinska kiselina, miristinska kiselina, arahidonska kiselina, palmitinska kiselina,

linolenska kiselina, oleinska kiselina), derivate poliacetilena, polisaharide i druge spojeve (ubikinon, β -sitosterol) (slika 5) (Wagner i sur., 2011).



Slika 5. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Carthami flos*.

4.1.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

U tradicionalnoj kineskoj medicini Carthami flos (Honghua) koristi se za uklanjanje staze krvi i poticanje cirkulacije, kod niza menstrualnih poremećaja (amenoreje, dismenoreje), protiv bolova u abdomenu, rana i ozljeda praćenih boli i oteknućem (Hempfen i Fischer, 2009; Wagner i sur., 2011).

4.1.4. Farmakološki učinci

Biološki učinci ekstrakata droge Carthami flos i pojedinih sastavnica istraženi su kroz niz *in vivo* i *in vitro* studija koje upućuju na njihov povoljan utjecaj na ljudsko zdravlje, posebice kod srčanih bolesti, hematoma i edema.

Djelovanje na krvožilni sustav

In vitro rezultati govore u prilog protuupalnom djelovanju droge na stanice srčanog mišića. Etanolni ekstrakt Carthami flos (62,5 µg/ml) inhibirao je aktivnost TNF α te suprimirao JNK signalni put i apoptozu u H9c2 stanicama kardiomiocita (Tien i sur., 2010).

Zaštitni učinak pročišćenog ekstrakta droge Carthami flos (100, 200, 400, i 600 mg/kg) na srce istražen je *in vivo*. Na modelu ishemije miokarda uzrokovane okluzijom lijeve prednje silazne koronarne arterije kod tretiranih je životinja uočeno smanjenje opsega tkiva zahvaćenog infarktom i poboljšanjem kardijalne funkcije (Han i sur., 2009). Daljnja istraživanja potvrđuju protektivno djelovanje ekstrakta Carthami flos (200 mg/kg) na temelju izmjerenih vrijednosti aktivnosti kreatin kinaze i laktat dehidrogenaze te pokazuju da se njegovo djelovanje može pojačati kombiniranjem s ekstraktom korijena vrste *Panax notoginseng* (50 mg/kg) (Han i sur., 2013a; Han i sur., 2013b). Najnovija *in vivo* studija (Han i sur., 2016) također govori u prilog kardioprotektivnom djelovanju etanolnog ekstrakta droge preko ERK1/2 signalnog puta na lipopolisaharidom-potaknutu kardijalnu fibrozu.

Sam spoj HSYA (4 ili 8 mg/kg) također djeluje kardioprotektivno što je dokazano smanjenjem opsega miokarda zahvaćenog infarktom u štakora s akutnom ishemijom miokarda (Wang i sur., 2009a; Wang i sur., 2009b). S druge pak strane studije pokazuju da droga Carthami flos može blokirati ekstracelularni influks Ca²⁺ iona kroz kanale ovisne o ligandu i kanale ovisne o potencijalu (Liu i sur., 2005). Također je dokazano da HSYA značajno smanjuje Ca²⁺ influks u srčane stanice, te kontraktilnost i brzinu rada srca u štakora. Takvo djelovanje upućuje na aktivaciju BKCa i KATP kanala (Nie i sur., 2012). Ostaje za utvrditi moguće djelovanja HSYA na smanjenje perifernog otpora.

Rezultati *in vitro* studija upućuju na antitrombotsko djelovanje šafranikinog cvijeta. Vodeni ekstrakt droge bio je učinkovitiji u prevenciji venske tromboze i plućne embolije nego klopidogetrel (Li i Wang, 2010; Li i sur., 2009). Također je otkrivena i sposobnost HSYA da poboljša preživljenje vaskularnih endotelih stanica u hipoksičnim uvjetima, što se može povezati s njegovim stimulirajućim učinkom na signalni put HIF-1 α -VEGF i regulaciju Bcl-2/Bax (Ji i sur., 2008). Daljne *in vitro* studije otkrile su da HSYA može zaštititi humane endotelne stanice pupčane vene (HUVEC) od hipoksije mehanizmom koji uključuje inhibiciju apoptoze. To ukazuje na mehanizam kojim HSYA djeluje u liječenju ishemijske bolesti srca (Ji i sur., 2009).

Djelovanje na živčani sustav

Hidroksisaflor žuto A (HSYA), kao najvažnija aktivna sastavnica droge Carthami flos, naširoko je istraživana u Kini kao lijek za cerebrovaskularne bolesti (Zhang i sur., 2009a; Zhang i sur., 2009b; Feng i sur., 2010; Li i sur., 2010; Tang i sur., 2010). Brojne studije ukazuju na njegov protektivni učinak na središnji živčani sustav. *In vitro* je dokazano da HSYA (0,072 mg/ml) potiče regeneraciju hipokampalnih stanica neonatalnih Sprague-Dawley štakora u normalnim ili ishemičnim uvjetima (Qin i sur., 2012). Također je smanjio stanični stres uslijed nedostatka kisika i glukoze u neuralnim matičnim stanicama i potaknuo neurogenezu *in vitro* (Qin i sur., 2012). Neuronsko oštećenje uzrokovano djelovanjem glutamata i natrijevog cijanida u kulturi fetalnih kortikalnih stanica značajno je inhibirano u prisutnosti HSYA (Zhu i sur., 2003). Terapijski potencijal HSYA za fokalnu cerebralnu ishemiju istražen je *in vivo*, na modelu središnje cerebralne arterijske okluzije. Pri početnoj dozi od 3 mg/kg HSYA je u štakora spriječio nastajanje tromba inhibirajući agregaciju trombocita i stvaranje PGI₂/TXA₂ (Zhu i sur., 2005). Na osnovi dosadašnjih istraživanja postavljena je hipoteza o mehanizmu djelovanja koji uključuje smanjenje oksidacijskog stresa (kroz redukciju lipidne peroksidacije, supresiju aktivnosti superoksid dizmutaze i glutation peroksidaze, povećanje ekspresije endotelne sintaze dušikova oksida) kao i smanjenje stanične apoptoze te posljedičnog strukturnog oštećenja živčanog tkiva. Navedene spoznaje upućuju na obećavajući terapijski potencijal HSYA u liječenju neuroloških oboljenja poput Alzheimerove bolesti i drugih (Kong i sur., 2013a; Kong i sur., 2013b).

Protuupalni učinak

Provedeno je niz *in vitro* istraživanja koja su se bavila protuupalnim svojstvima vodenog ekstrakta droge Carthami flos i njegove sastavnice kartamus žuto (CY). Na modelu bakterijskim lipopolisaharidima-potaknutog upalnog odgovora na RAW264.7 staničnoj liniji

makrofaga ustanovljeno je da vodeni ekstrakt (1–1000 µg/ml) i CY (1–2000 µg/ml) suprimiraju produkciju upanih NO, PGE2 i IL-1β te smanjuju ekspresiju iNOS i COX-2 (Wang i sur., 2010). Uzevši u obzir inhibiciju degradacije citosolnog IκB-α proteina i inhibiciju ekspresije fosfo-NF-κB proteina, postavljena je hipoteza da vodeni ekstrakt Carthami flos i CY mogu inhibirati LPS-om potaknutu ekspresiju iNOS i COX-2 gena inaktivacijom NF-κB. Kao djelatna tvar vodenog ekstrakta, saflor žuto inhibitorno je djelovao na plućnu fibrozu *in vivo* i *in vitro* kočenjem ekspresije aktina glatkog mišića (α-SMA) (Wang i sur., 2011a; Wang i sur., 2011b). Istraživanja provedena s metanolnim ekstraktom pokazala su da droga Carthami flos potiče ekspresiju hem oksigenaze-1 translokacijom Nrf2 faktora i inhibicijom aktivnost NF-κB. Taj potencijalni molekularni mehanizam pružio je nove uvide u protuupalno djelovanje vodenog ekstrakta Carthami flos i CY (Jun i sur., 2011). Suprotno tome, polisaharidi prisutni u drogi pokazali su imunomodulirajuće djelovanje i učinkovito su aktivirali NF-κB signalni put preko TLR4 te potakli produkciju različitih citokina (IL-1, IL-6, IL-12, and IFN-γ) iz peritonealnih makrofaga (Ando i sur., 2002).

Posljednja istraživanja HSYA usredotočena su na mogućnost primjene u liječenju akutne plućne ozljede. Djelotvornost je procijenjena *in vitro* na A549 humanim alveolarnim epitelnim stanicama i endotelnim stanicama pupčane vene (Eahy 926) te na animalnom modelu. Rezultati pokazuju da HSYA poboljšava stanje pluća suprimiranjem aktivnosti p38 MAP kinaze i aktivacijom NF-κB, što posljedično dovodi do znatnog smanjenja broja infiltrirajućih upalnih stanica i ekspresije proupalnih citokina u plućnom tkivu, pa tako i smanjenja pulmonarnog edema i respiratorne disfunkcije (Sun i sur., 2010; Zhu i sur., 2012; Wu i sur., 2012a; Wu i sur., 2012b; Song i sur., 2013). S obzirom na njegovu dobru topljivost u vodi, ova otkrića sugeriraju da bi HSYA mogao ciljno djelovati na staničnu membranu i interferirati s receptorima i njihovim specifičnim ligandima (poput mikrobnih liganda, proupalnih citokina, čimbenika rasta, itd.) kako bi djelovao na nizvodne signalne putove. Međutim, točan mehanizam kojim HSYA mijenja intracelularno signaliziranje i dalje se istražuje.

Druge sastavnice droge Carthami flos također djeluju protuupalno. Saflokinozid A inhibirao je otpuštanje β-glukuronidaze iz polimorfonuklearnih neutrofila (PMN) štakora koji su bili aktivirani faktorom aktivacije trombocita (PAF) (Jiang i sur., 2010).

Protutumorski učinak

Carthami flos se u tradicionalnoj medicini koristi kao adjuvantna terapija u liječenju karcinoma. Moderna farmakološka ispitivanja potvrdila su protutumorsko djelovanje droge

Carthami flos *in vitro* i *in vivo*. Na hepatičkim je stanicama dokazano da biljni ekstrakt (40 mg/mL) ima antiproliferativna i proapoptotska svojstva, a mogući mehanizam uključuje regulaciju genske ekspresije Fas i Bcl2 signalnih puteva (Chor i sur., 2005). Daljnje *in vitro* studije pokazala su da saflor žuto B (1-100 nmol/L) o dozi-ovisno štiti PC12 stanice feokromocitoma štakora od štetnog djelovanja vodikovog peroksida i apoptoze antioksidativnim mehanizmom povezanim sa supresijom aktivnosti kaspaze-3, ekspresijom Bax i povećanom sintezom Bcl-2 (Wang i sur., 2009a; Wang i sur., 2009b). Zhang i suradnici (2012a, 2012b, 2012c) su kroz nekoliko studija utvrdili da polisaharid S iz droge Carthami flos (0,02-1,28 g/L) o dozi-ovisno inhibira proliferaciju i potiče apoptozu SMMC-7721 stanica humanog hepatokarcinoma. Predloženi mehanizam uključuje povećanje ekspresije Bax, smanjenjem ekspresije Bcl-2 i smanjenje mitohondrijskog membranskog potencijala. HSYA (0,028 g/L) je inhibirao rast transplantiranog BGC-823 tumora inhibicijom tumorske vaskularizacije (Xi i sur., 2012). Kartamin je o dozi-ovisno (10^{-5} - 10^{-3} mol/L) inducirao diferencijaciju K562 leukemijskih stanica do kranjnjih stanica (Wu i sur., 2012a; Wu i sur., 2012b).

In vivo protutumorska aktivnost droge Carthami flos dokazana je na modelu adenokarcinoma u miševa kod kojih je zabilježena polarizacija prema Th1 citokinima i povećanje broja citotoksičnih T-limfocita (Chang i sur., 2011). Postoje i rezultati o učinkovitosti droge Carthami flos protiv karcinoma dojke (Loo i sur., 2004). Za djelovanje droge djelomično je odgovorna supresija aktivnosti kaspaze-3 i ekspresije Bax, povećanje sinteze Bcl-2 te inhibicija tumorske vaskularizacije.

Djelovanje na koštani sustav

Ekstrakt Carthami flos (2–10 µg/mL) je pokazao sposobnost da inhibira osteoklastogenezu modulirajući signalizaciju putem liganda receptorskog aktivatora NF-κB (RANKL) u MC3TC-E1 stanicama (Choi i sur., 2010). Ustanovljeno je da je saflor žuto (1,6 mg/mL) aktivna sastavnica druge koja potiče cijeljenje oštećenih tetiva u kokoši što se očitovalo u povećanoj ekspresiji bFGF i kolagena tipa I (Liu i sur., 2011a; Liu i sur., 2011b). Također, HSYA je smanjio ekspresiju TLR4 mRNA u osteoblastima (Lu i Tu, 2012). Ova istraživanja upućuju na moguću terapijsku vrijednost droge Carthami flos i/ili njenih sastavnica u liječenju osteoporoze i drugih bolesti koštanog sustava.

ŠAFRANIKIN CVIJET

Carthami flos

DEFINICIJA

Osušeni cvijet vrste *Carthamus tinctorius* L.

Sadržaj: najmanje 1,0 posto ukupnih flavonoida, izraženo kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Apsorbancija (2.2.25).

- A. *Žuti pigment*: 0,1 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) macerira se u 150 mL vode R, miješa 1 sat, filtrira kroz stakleni sinter-filtar (40) (2.1.2) i nadopuni do 500,0 mL s vodom R uz ispiranje ostatka na sinter-filtru. Apsorbancija na 401 nm je najmanje 0,40.
- B. *Crveni pigment*: 0,25 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) pomiješa se s 50 mL mješavine 20 dijelova vode R i 80 dijelova acetona R. Sadržaj se zagrijava 90 minuta na vodenoj kupelji od 50 °C. Nakon hlađenja filtrira se kroz stakleni sinter-filtar (40) (2.1.2) i nadopuni do 100,0 mL s mješavinom 20 dijelova vode R i 80 dijelova acetona R uz ispiranje ostatka na sinter-filtru. Apsorbancija na 518 nm je najmanje 0,40.

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 11,0, posto određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem u sušioniku 2 sata na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 10,0 posto.

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini (2.8.1): najviše 3,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Otopina A. Stavi se 0,250 g praškaste biljne droge (180) (2.9.12.) u tikvicu od 250 mL i doda 95 mL metanola R. Zagrijava se 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Ohladi se i potom filtrira. Filter se ispere s 5 mL metanola R. Filtrat i ispirak sjedine se u odmjernoj tikvici i razrijede do 100,00 mL s metanolom R.

Ispitivana otopina. 5,0 mL otopine A prenese se u odmjernu tikvicu i razrijediti do 20,0 mL s otopinom aluminijske klorida R u metanolu R koncentracije 20 g/L.

Poredbena otopina. 5,0 mL otopine A prenese se u odmjernu tikvicu i razrijedi do 20,0 mL s metanolom R.

Nakon točno 15 minuta izmjeri se apsorbancija (2.2.25.) ispitivane otopine na 420 nm. Postotak ukupnih flavonoida, izraženo kao hiperozid, izračuna se koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A}{m}$$

uzevši da specifična apsorbancija hiperozida na 420 nm iznosi 400.

A = apsorbancija ispitivane otopine na 420 nm.

m = masa ispitivane biljne droge , u gramima.

4.2. Ecliptae herba (墨旱莲, Mohanlian)

Ecliptae herba (*eng.* Eclipta herb) (slika 6) je kineska ljekovita droga koju čine osušeni cvatući nadzemni dijelovi biljne vrste *Eclipta prostrata* L. (slika 7).



Slika 6. Ecliptae herba.

4.2.1. Opis biljke

Eclipta prostrata L. (Asteraceae) je jednogodišnja biljka koja naraste 10-60 cm u visinu. Listovi su nasuprotni, suličasti ili linearno-suličasti, 3-10 cm dugi i 5-25 mm široki, gotovo sjedeći, s obje strane dlakavi. Cvat je glavica koja se razvija terminalno ili u pazuškima listova. Vanjski cvjetići su jezičasti, bijele boje, ženski, dok su unutarnji cjevasti, dvospolni, žuto zelene boje, s 4 prašnika (Slika 7). Cvate od srpnja do rujna. Plod je rebrasta roška, duga 3 mm i široka 1,5 mm. Cijela biljka ima slatko-kiseli okus. Raste na vlažnom tlu uz obale rijeka i na travnjacima u Kini, Indiji, Koreji, Japanu, Kambodži, Filipinima i Vijetnamu (WHO, 1989).

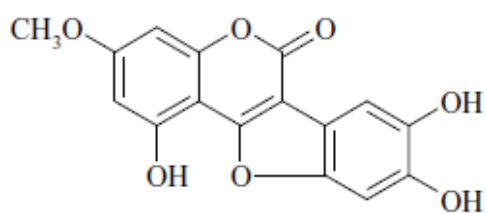


Slika 7. *Eclipta prostrata* L.

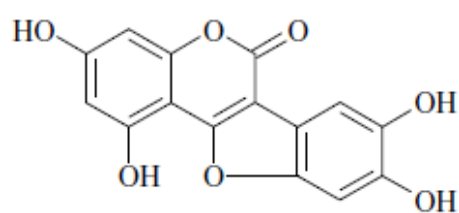
(preuzeto s www.astrogle.com)

4.2.2. Fitokemijski sastav

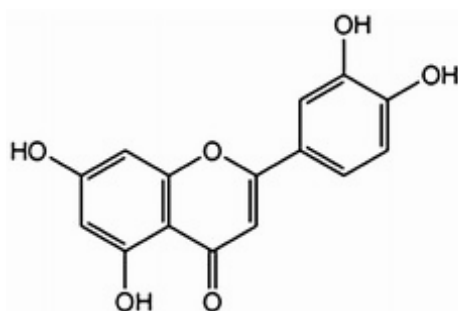
Zelen biljne vrste *Eclipta prostrata* L. sadrži fitoestrogene iz skupine **kumestana** (vedelolakton, desmetilvedelolakton, desmetilvedelolakton-7-glukozid), potom **flavonoide** (apigenin, luteolin, apigenin-7-glukozid, luteolin-7-glukozid), **alkaloide** (nikotin, ekliptin), triterpenske spojeve (ekliptasaponini A-D, α -amirin, β -amirin, oleanolna kiselina, ursolna kiselina), **fitosterole** (β -amirin, stigmasterol, β -sitosterol), dugolančane alkohole (hentriakontan-16-ol, heptakosan-14-ol), tiofenacilen (α -tertienilmetanol = tertienilkarbinol), poliacetilene, peptide i fenolne kiseline (protokatehinsku kiselinu, 4-hidroksibenzojevu kiselinu, izoklorogensku kiselinu) (slika 8) (Wagner i sur., 2011).



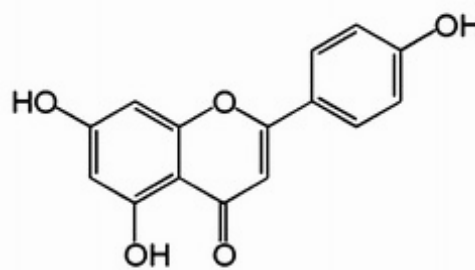
Vedelolakton



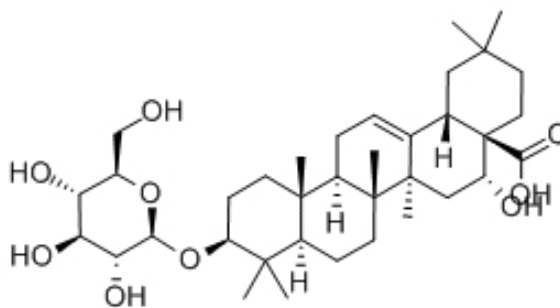
Desmetilvedelolakton



Luteolin



Apigenin



Ekliptasaponin A

Slika 8. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Ecliptae herba*.

4.2.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

Ecliptae herba se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi protiv vrtoglavice, zujanja u ušima te kod različitih oblika krvarenja poput hematemeze, epistaksije (spontano krvarenje iz nosa), hematurije, melene (crne stolice), krvave dijareje i uterinog krvarenja nepoznate etiologije. Ostale indikacije uključuju preuranjeno sijedenje kose, bolove i slabost u koljenima i zdjelici (Hempen i Fischer, 2009; Wagner i sur., 2011).

4.2.4. Farmakološki učinci

Protutumorsko djelovanje

Istraživana je protutumorska aktivnost različitih ekstrakata, frakcija i izoliranih spojeva ekliptine zeleni primjenom MTT testa na kulturi SMMC-7721 stanica humanog hepatoma (La i sur., 2009; Tavakkol-Afshari i sur., 2008; Diasio i Harris, 1989). Dobiveni rezultati pokazuju da 30%-tni etanolni ekstrakt (IC_{50} 74 $\mu\text{g/mL}$) i eklalbasaponin I (IC_{50} 111 $\mu\text{g/mL}$) snažnije inhibiraju staničnu proliferaciju nego referentni lijek 5-fluorouracil (IC_{50} 195 $\mu\text{g/mL}$), što ohrabruje daljnja opsežnija istraživanja (Liu i sur., 2016). Nadalje je ustanovljeno da α -tertienilmetanol, prirodni tertiofen izoliran iz vrste *E. prostrata*, inducira apoptozu humanih stanica raka endometrija stvaranjem slobodnih kisikovih radikala (djelomično preko NADPH oksidaze) (Lee i sur., 2015).

Hipolipemičko i antioksidativno djelovanje

Nekoliko studija upućuje na hipolipemičko djelovanje biljne vrste *Eclipta prostrata*. Kako bi pronašli aktivnu frakciju i razjasnili mehanizam djelovanja, Zhao i sur. (2015) tretirali su hiperlipidemične mišve etanolnim ekstraktom droge i nizom njegovih frakcija. Frakcija koja je bila najučinkovitija (EPF3) pokazala se sigurnom u dozi od 10,4 g/kg kod miša. Daljnja istraživanja provedena su na zamorcima koji su tretirani različitim dozama EPF3 frakcije (75, 150 i 250 mg/kg). Uočeno je značajno smanjenje povećane tjelesne i jetrene mase te koncentracije serumskih lipida u hiperlipidemičnih životinja. Također je povećana aktivnost enzima važnih u zaštiti od slobodnih radikala. Povećana je sinteza mRNA i ekspresija PPAR α , receptora za lipoprotein niste gustoće (LDLR), lecitin-kolesterol transferaze (LCAT) i receptora hvatača klase B tipa I (SR-BI), te je smanjena ekspresija 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA reduktaze (HMGR) u jetri. Dobiveni rezultati pokazuju da EPF3 liječi hiperlipidemiju smanjenjem oksidativnog stresa i modulacijom transkripcije gena uključenih u metabolizam lipida (Zhao i sur., 2015).

Hepatoprotektivno djelovanje

Jetrene zvjezdaste stanice imaju glavnu ulogu u patogenezi jetrene ciroze. U okviru *in vitro* istraživanja antifibroznog djelovanja na HSC-T6 jetrenim stanicama utvrđeno je da metanolni ekstrakt nadzemnih dijelova vrste *Eclipta prostrata* značajno inhibira proliferaciju stanica. Izolirano je 5 triterpenoida oleananskog tipa - ehinocistična kiselina te njeni derivati, eklalbasaponini I, II, III i V. Sama ehinocistična kiselina i eklalbasaponin II značajno su inhibirali proliferaciju HSC-T6 jetrenih stanica. Otkrivena je da je za djelovanje izoliranih spojeva važna slobodna karboksilna skupina na položaju C-28 (Lee i sur., 2007). Rezultati upućuju na potencijalnu primjenu ekliptine zeleni protiv jetrene ciroze (Lee i sur., 2008). na modelu tetraklorugljikom-izazvanog akutnog oštećenja jetre dokazano je hepatoprotektivno djelovanje etanolnog ekstrakta ekliptine zeleni *in vivo*. Primjenjen u dozi 200 mg/kg ekstrakt je povoljno djelovao na razinu jetrenih enzima i drugih pokazatelja oštećenja jetre (Jolly i Johny, 2013).

Neuroprotektivno djelovanje

Eclipta prostrata se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi za prevenciju demencije i poboljšanje pamćenja. Nootropna i antioksidativna svojstva droge dokazana su na animalnom modelu. U životinja koje su tijekom 6 tjedana dobivale 100 mg liofiliziranog butanolnog ekstrakta ekliptine zeleni zabilježen je porast razine acetilkolina u mozgu za 12% u odnosu na kontrolnu netretiranu skupinu. Aktivnost acetilkolinesteraze u mozgu porasla je za 20% te je zabilježeno blago smanjenje aktivnosti monoaminoksidaze B (11%). Razina slobodnih superoksidnih radikala u serumu životinja tretiranih s 100 mg ekstrakta također je smanjena (9%), a aktivnost superoksid dizmutaze povećana (12%) (Dae-Ik Kim i sur., 2010). Ovi rezultati upućuju na djelovanje ekliptine zeleni na sintezu acetilkolina u mozgu štakora i na smanjenje oksidativnog stresa u mozgu i serumu štakora te sugeriraju moguću primjenu u prevenciji demencije i poboljšanju moždane funkcije (Kim i sur., 2010).

EKLIPTINA ZELEN

Ecliptae herba

DEFINICIJA

Osušeni, cijeli ili usitnjeni cvatući nadzemni dijelovi vrste *Eclipta prostrata* L.

Sadržaj: najmanje 0,04 posto vedelolaktone ($C_{16}H_{10}O_7$; Mr 314,3) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 11,0 posto određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem 2 sata u sušioniku na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 13,0 posto.

Pepeo netopljiv u kloridnoj kiselini (2.8.1): najviše 2,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

Ispitivana otopina. Dispergira se 0,300 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) u 10 mL *etanol*a (70 postotni V/V) R u koničnoj tikvicu i izvaže. Sadržaj se zagrijava pod povratnim hladilom 1 sat, ohladi i ponovo važe. Nadoknadi se gubitak otapala s *etanolom* (70 postotni V/V) R, dobro promiješa i ostavi stajati. Filtrira se kroz membranski filter (nominalna veličina pora 0,22 µm).

Poredbena otopina (a). Otopit se 4,0 mg vedelolaktone CRS u *metanolu* R i razrijedi do 100,0 mL s istim otapalom.

Poredbena otopina (b). Otopit se 2 mg *etilparahidroksibenzoata* R u poredbenoj otopini (a) i razrijedi do 50 mL s poredbenom otopinom (a).

Kolona:

- *veličina*: l = 0,15 m, Ø = 4,6 mm;

- *nepokretna faza*: modificirani oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

Pokretna faza: acetonitril R, 0,2 postotna V/V otopina fosforne kiseline R (24:76 V/V).

Brzina protoka: 1,0 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 249 nm.

Injektiranje: 20 µL.

Trajanje analize: 1,5 puta duže od vremena zadržavanja vedelolaktone.

Relativno vrijeme zadržavanja s obzirom na vedelolakton (vrijeme zadržavanja = oko 17 minuta): etilparahidroksibenzoat = oko 1,1.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (b):

- *razlučivanje*: najmanje 2,0 između pikova vedelolaktone i etilparahidroksibenzoata.

Izračuna se postotak vedelolaktone koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 10}$$

A_1 = površina pika vedelolaktone na kromatogramu ispitivane otopine;

A_2 = površina pika vedelolaktone na kromatogramu poredbene otopine (a);

m_1 = masa biljne droge korištena za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

m_2 = masa vedelolaktone CRS korištena za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

p = postotni udio vedelolaktone u vedelolaktone CRS.

4.3. Ephedrae herba (麻黄, Mahuang)

Ephedrae herba (eng. Ephedra herb) (slika 9) je kineska ljekovita droga koju čine osušeni nadzemni dijelovi biljnih vrsta *Ephedra sinica* Stapf, *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey. ili *Ephedra equisetina* Bunge (slika 10).



Slika 9. Ephedrae herba.

4.3.1. Opis biljke

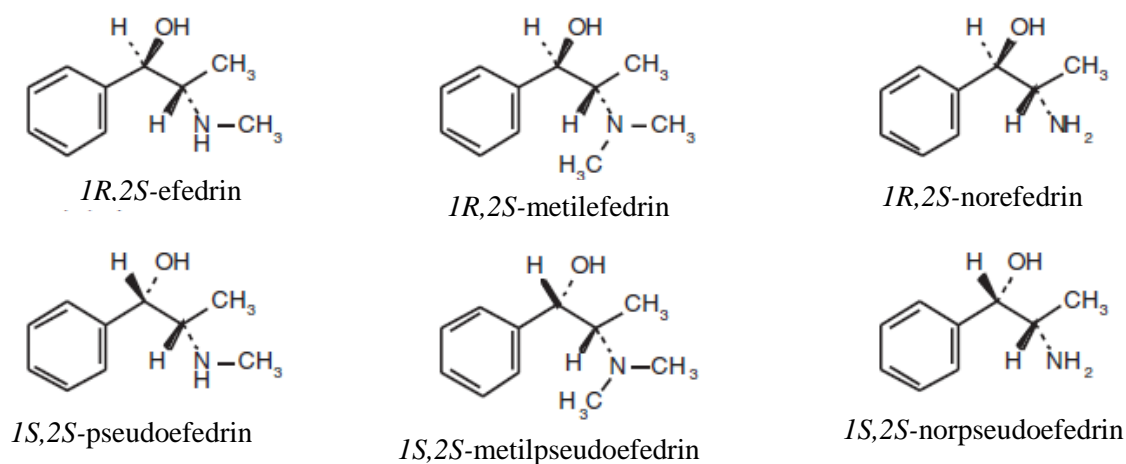
Ephedra sinica Stapf (Ephedraceae) je uspravni ili polegnuti, šibasti polugrm visok 20-40 cm. Grančice su plavozelene boje, uspravne i člankovite; članci dugi 3-6 cm, promjera do 2 mm, uzdužno rijetko izbrazdani. Listići su nasuprotni, reducirani, u ljuske duge 2 mm; trokutasti su i srastaju u nodijima (Slika 10). Jednospolni cvjetovi razvijaju se ljeti. Plod je dvosjemeni češerić koji je izvana obavijen crvenim mesnatim ovojnom pa nalikuje na bobu. Zelen biljke ima gorak i stežuć okus. Biljka raste u Kini na suhim padinama i isušanim riječnim koritima (WHO, 1989).



Slika 10. *Ephedra sinica* Stapf
(preuzeto s www.worldbotanical.com)

4.3.2. Fitokemijski sastav

Zeleni biljni vrste *Ephedra sinica* sadrži **alkaloide** efedrin, pseudoefedrin (*1S,2S* stereoizomer efedrina), norpseudoefedrin (katin), norefedrin, metilefedrin, metilpseudoefedrin te druge manje zastupljene sastavnice poput trjeslovina, kinolina i 6-hidroksikinurenične kiseline (slika 11). Stabljika sadrži 0,5-2,5% alkaloida, od čega je udio efedrina oko 30-90%. Varijacije u sadržaju uvjetovane su biljnom vrstom i sakupljenim dijelom biljke. Odrvenjeli dijelovi stabljike su siromašni alkaloidima dok ih plodovi i korijenje uopće ne sadrže. S druge strane, zeleni dijelovi stabljike sadržavaju do 2,5% alkaloida. *Ephedra sinica* obično sadrži veće količine alkaloida od vrste *Ephedra intermedia* (www.sigmaaldrich.com).



Slika 11. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Ephedrae herba*.

4.3.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

Ephedrae herba se u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi u liječenju urtikarije, enureze (nekontroliranog mokrenja tijekom sna), narkolepsije, miastenije gravis i kronične posturalne hipotenzije. Ostali navodi o tradicionalnoj primjeni govore da se koristi i kao analgetik, antitusik, ekspektorans, imunostimulans, antibakterijski i antiviralni agens u liječenju groznice, vrućice, glavobolje, kašlja, respiratornih smetnji i infekcija sličnih gripi (WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, 1999; Hempen i Fischer, 2009).

4.3.4. Farmakološki i klinički učinci

Glavna biološki aktivna komponenta biljne droge *Ecliptae herba* je efedrin koji posjeduje dva kiralna centra i može postojati kao *1R,2S*- i *1S,2R*-efedrin, te *1R,2R*- i *1S,2S*-pseudoefedrin (Griffith i Johnson, 1995). Efedrin je potentni simpatomimetik čiji su neželjeni i korisni farmakološki učinci posredovani djelovanjem na alfa- i beta-adrenergičke receptore (AR). Mogu biti posljedica izravne agonističke ili antagonističke interakcije s receptorima ili neizravno uzrokujući otpuštanje endogenih katekolamina i/ili inhibicijom njihove ponovne pohrane u neurone (Rothman i sur., 2003; Wellman i sur., 2003; Vansal i Feller, 1999; WHO, 1999). Relativni doprinos ovih izravnih i neizravnih interakcija farmakološkom učinku efedrina i izomera *in vivo* na AR ostaje kontroverza. Općenito, efedra alkaloidi *1R,2S* konfiguracije su pokazali izravni farmakološki učinak na AR, dok izomeri *1S,2S* imaju neizravni učinak (Liles i sur., 2006; Vansal i Feller, 1999; WHO, 1999). U studijama neizravni se učinak efedrinskih izomera dokazao demonstrirajući depleciju noradrenalinskih tkivnih zaliha koristeći reserpin. Najnovija studija od Rothmana i sur. (2003) objavljuje da mehanizam najpotentnijeg djelovanja efedrinskih i norefedrinskih analoga i izomera jest djelovanje kao supstrata za noradrenalinske transportere uzrokujući veću količinu dostupnog noradrenalina u sinaptičkim pukotinama (Guoyi i sur., 2007). U nadbubrežnoj žlijezdi takav učinak rezultira povećanim otpuštanjem adrenalina u krvotok koji izravno stimulira alfa- i beta-adrenoreceptore na periferiji. Alfa-1 receptorski signalni put aktivira fosfolipazu-C (PLC) povisujući koncentraciju kalcijevih iona u stanicama te posljedično uzrokuje vazokonstrikciju u koži, gastrointestinalnom sustavu i renalnim arterijama te potiče glukoneogenezu i glikogenolizu u hepatocitima (Fitzpatrick i sur., 2004). Alfa-2 su presinaptički receptori koji signaliziraju negativnu povratnu spregu smanjenjem koncentracije cAMP-a. U stanicama gušterače time uzrokuju inhibiciju otpuštanja inzulina, a povećavaju otpuštanje glukagona. Stimulacija beta receptora kojom se povisuje intracelularna razina cAMP-a odgovorna je za povećano lučenje renina iz jukstaglomerularnih stanica bubrega, pozitivni kronotropni učinak na srce, opuštanje glatkih mišića u bronhima i skeletnim mišićima te poticanje lipolize u adipocitima (Large i sur., 1997).

Učinak na kardiovaskularni sustav

Poput adrenalina, efedrin ekscitira simpatički živčani sustav uzrokujući vazokonstrikciju i tahikardiju. Efedrin je, za razliku od adrenalina, aktivan i nakon oralne administracije, ima mnogo dulje vrijeme djelovanja i izraženiji učinak na središnji živčani sustav, ali je manje potentan. Lijek stimulira brzinu rada srca i snagu kontrakcije, povećava perifernu rezistenciju

i rezultira povišenjem krvnog tlaka. Kardiovaskularni učinci efedrina traju i do 10 puta dulje nego od adrenalina. Efedrin povisuje i sistolički i dijastolički tlak. Smanjuje protok krvi kroz slezenu i bubrege, a povećava kroz srce, mozak i mišiće (Godman i Gilman, 1993; WHO, 1999).

Kofein i efedrinski alkaloidi nedavno su uklonjeni s liste zabranjenih supstancija Međunarodnog olimpijskog odbora, a sam efedrin je dozvoljen do koncentracije 10 mg/mL u urinu. Navedene promjene mogle bi uzrokovati češće korištenje ovih supstancija među atletičarima. Zbog toga se željelo istražiti učinak kofeina (C) ili kombinacije efedrina i kofeina (C+E) na mišićnu sposobnost i anaerobnu snagu u dvostruko slijepoj unakrsnoj studiji. 45 minuta nakon ingestije placebo glukoze (P: 300 mg), C (300 mg), C + E (300 mg + 60 mg), 9 muškaraca je testirano na maksimalnu mišićnu sposobnost podizanjem utega i polaminutnim Wingate test bicikliranjem kojim se utvrdila najveća anaerobna snaga, prosječna snaga i indeks umora. Iako su ispitanici izjavili da im se povećala budnost, pozornost i spremnost nakon suplementacije kofeinom i efedrom, nije bilo značajne razlike između zabilježene snage, izdržljivosti i mišićne sposobnosti. Ovi rezultati ne podržavaju tvrdnju da suplementacija kofeinom i efedrom poboljšava atletsku sposobnost (Williams i sur., 2008).

Bronhodilatatorni i dekonjestivni učinak

Efedrin, kao i adrenalin, opušta bronhijalne mišiće i potentni je bronhodilatator zahvaljujući agonističkom djelovanju na β -adrenoreceptore u plućima. Opuštanje bronhijalnih mišića je manje izraženo, ali postojanije uz efedrin nego uz adrenalin. Zbog toga bi se efedrin trebao koristiti kod blagih akutnih napadaja astme i kronično za održavanje remisije. Efedrin uzrokuje vazokonstrikciju i bljedilo kože ako se primijeni topikalno na nazalnu i faringealnu sluznicu (Goodman i Gilman, 1993). Kontinuirano produženo korištenje ovih preparata (>3 dana) mogu uzrokovati povratnu kongestiju i kronični rinitis (Krinsky i sur., 1986). I efedrin i pseudoefedrin su korisni oralno kao nazalni dekonjestivi u slučaju alergijskog rinitisa, ali mogu imati slabu učinkovitost kod kongestije zbog prehlade (WHO, 1999).

Učinak na središnji i periferni živčani sustav

Efedrin je potentni stimulator središnjeg živčanog sustava. Simptomi koji se mogu očitovati uključuju strah, nemir, razdražljivost, tremor, glavobolju, plućni edem, nesanicu i smanjenje apetita, a učinak može trajati nekoliko sati nakon oralne primjene (Goodman i Gilman, 1993). Zbog smanjenja apetita te učinka na beta-2 i beta-3 receptore kojima se potiče lipoliza u

adipocitima, ova biljna vrsta koristi kao pomoć pri mršavljenju, ali sigurnost i učinkovitost ovakvih preparata je još upitna i zahtjeva daljnja ispitivanja (WHO, 1999).

Midrijaza se javlja nakon lokalne aplikacije efedrina (3-5%) u oko, ali učinak traje samo nekoliko sati. Efedrin je od malog značaja kao midrijatik dok je prisutna upala. Aktivnost glatkih mišića maternice se obično smanjuje djelovanjem efedrina zbog čega se lijek koristi za smanjivanje simptoma dismenoreje. Efedrin uzrokuje kontrakciju glatkih mišića mokraćnog mjehura što povećava otpor prolasku urina. To svojstvo se koristi za liječenje urinarne inkontinencije i noćne enureze (Goodman i Gilman, 1993).

Djelovanje na pretilost

Učinkovitost i nuspojave biljne formulacije koja sadrži efedrin i kofein na gubitak težine klinički je istražena. Studija je provedena u tri klinike u trajanju od 12 tjedana, bila je dvostruko slijepa, randomizirana i placebo kontrolirana. Ispitanici su imali povišenu tjelesnu masu ili su bili pretili (BMI 30-39,9 kg/m²) i bili su u dobi od 18 do 65 godina. Težina, postotak masnog tkiva, sama težina masnog tkiva, opseg struka, BMI, krvni tlak i puls su mjereni nakon 2. dana, 1. tjedna, 2. tjedna, 4. tjedna, 8. tjedna i 12. tjedna studije. Utvrđeno je da su ispitanici koji su uzimali aktivnu supstanciju izgubili u prosjeku 1,5 kg više od skupine koja je primala placebo. Također je zabilježeno smanjenje BMI i opsega struka, a postotak masnog tkiva, težina masnog tkiva, krvni tlak i puls se nisu znatno razlikovali. Zaključeno je da je kroz 12 tjedana tretirana skupina ispitanika ostvarila značajno veći gubitak tjelesne težine u odnosu na placebo, bez promjena u krvnom tlaku i puls. Učinci su postignuti bez ikakvih promjena životnog stila te uz manju dozu efedrina i kofeina od one koja se obično koristi (Coffey i sur., 2004).

Budući da se aktivacijom smeđeg adipoznog tkiva (BAT) povećava potrošnja energije smatra se da bi taj pristup mogao biti značajan za liječenje pretilosti. Primarni aktivirajući signal za BAT odvija se putem β -adrenergičnih receptora te je utvrđen akutni odgovor BAT-a na oralnu administraciju simpatomimetika efedrina. Randomiziranom, placebo-kontroliranom studijom željelo se utvrditi može li dugotrajna primjena efedrina potaknuti adaptivnu termogenezu. Studija je provedena na 23-oje zdravih, mladih fizički neaktivnih muškaraca nepušača, koji nisu uzimali nikakve lijekove i nisu imali kardiovaskularne bolesti ni dijabetes u obiteljskoj povijest bolesti. Ispitanici su svakodnevno uzimali 1,5 mg/kg efedrina. Nakon 28 dana, aktivna grupa je izgubila značajnu količinu ukupnog i visceralnog adipoznog tkiva bez promjene u količini mišićnog i koštanog tkiva. Kao odgovor na akutnu administraciju

efedrina, BAT aktivnost je bila značajno smanjena u aktivnoj grupi naspram kontrolne. Dokazano je da kronična administracija efedrina smanjuje sadržaj adipoznog tkiva, ali nije udružena s povećanjem BAT aktivnosti. Štoviše, duža primjena je smanjila potrošnju glukoze u BAT-u što ukazuje na smanjenje BAT aktivnosti (Carey i sur., 2015). Takvi rezultati te sama činjenica da učinak simpatomimetika putem alfa-receptora povišuje glikemiju i istovremeno inhibira otpuštanje inzulina iz beta stanica Langerhansovih otočića gušterače ukazuje na potencijalno opasne posljedice dugoročne primjene efedrina na metabolizam glukoze i euglikemiju (Fitzpatrick i sur., 2004).

Kontraindikacije

Zelen kositernice ne smiju koristiti pacijenti s preboljelom koronarnom trombozom, dijabetesom, glaukomom, srčanim oboljenjem, hipertenzijom, bolestima štitnjače, nedostatnom moždanom cirkulacijom, feokromocitomom ni s benignim povećanjem prostate. Također, istovremena primjena ove ljekovite droge s inhibitorima monoaminooksidaze je kontraindicirana jer može uzrokovati ozbiljnu, potencijalno smrtonosnu hipertenziju (WHO, 1999).

ZELEN KOSITERNICE

Ephedrae herba

DEFINICIJA

Osušeni zeleni dijelovi stabljike vrste *Ephedra sinica* Stapf, *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey. ili *Ephedra equisetina* Bunge.

Sadržaj: najmanje 1,0 posto efedrina ($C_{10}H_{15}NO$; Mr 165,2) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 10,0 posto, određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem 2 sata u sušioniku na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 9,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

Ispitivana otopina. Pomiješa se 0,200 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sa 25,0 mL metanola R, vagne i sonicira 45 minuta. Sadržaj se ohladi, izvaže i dopuni do prvotne mase s metanolom R, dobro promućka i filtrira. Prenese se 1,0 mL filtrata na malu kolonu (promjera 1 cm) punjenu s 1,50 g neutralnog aluminijevog oksida R (60-210 µm). Eluira se sa smjesom jednakih volumena metanola R i vode R. Sakupi se oko 9 mL eluata, doda 0,5 mL fosforne kiseline R i razrijedi do 10,0 mL sa smjesom jednakih volumena metanola R i vode R.

Poredbena otopina (a). Otopi se 10,0 mg efedrin hidroklorida CRS u metanolu R i razrijedi do 100,0 mL s istim otapalom. Razrijedi se 2,0 mL te otopine do 25,0 mL s mobilnom fazom.

Poredbena otopina (b). Otopit se 1 mg efedrin hidroklorida CRS i 1 mg terbutalin sulfata CRS u metanolu R i razrijedi do 10 mL s istim otapalom. Razrijedi se 2 mL te otopine do 25 mL s mobilnom fazom.

Kolona:

- veličina: l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm;

- nepokretna faza: oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

Pokretna faza: acetonitril R1, 0,1 postotna V/V otopina fosforne kiseline R (15:85 V/V).

Brzina protoka: 2,0 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 207 nm.

Injektiranje: 10 µL.

Trajanje analize: 3 puta duže od vremena zadržavanja efedrina.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (b):

- razlučivanje: najmanje 3,5 između pikova terbutalina i efedrina.

Postotak efedrina izračuna se koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 165,2}{A_2 \times m_1 \times 5 \times 201,7}$$

A_1 = površina pika efedrina na kromatogramu ispitivane otopine;

A_2 = površina pika efedrina na kromatogramu poredbene otopine (a);

m_1 = masa biljne droge korištena za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

m_2 = masa *efedrin hidroklorida CRS* korištena za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

p = postotni udio efedrin hidroklorida u *efedrin hidrokloridu CRS*.

4.4. *Magnoliae officinalis* flos (厚朴花, Houpohua)

Magnoliae officinalis flos (eng. *Magnolia officinalis* flower) (slika 12) je kineska ljekovita droga dobivena od osušenih cvjetnih pupoljaka biljne vrste *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. (slika 13).



Slika 12. *Magnoliae officinalis* flos.

4.4.1. Opis biljke

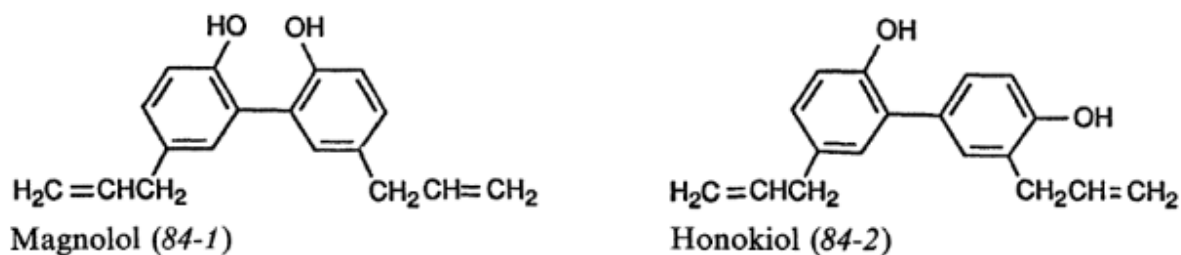
Magnolia officinalis Rehd. et Wils. (Magnoliaceae) je listopadno stablo koje može narasti do 22 metara visine. Kora drveta je glatka, smeđkasto-sive boje i aromatična. Listovi su vrlo veliki, eliptičnog do naopako jajastog oblika, dugački do 35 cm, široki 17-18 cm. Biljka cvjeta u svibnju kada se razvijaju veliki, mirisni cvjetovi bežkasto bijele boje. Cvjetovi imaju 9-15 latica od kojih su 3 vanjske blijedozelene i na vanjskoj strani obojane ružičaste, dok je 6-12 unutarnjih bež-bijele boje, i mesnate su. Plod je jednoplodnički ovalni češer dug 10-12 cm (Slika 13). Raste u planinskim predjelima Kine (WHO, 1989).



Slika 13. *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.
(preuzeto s www.blogspot.com)

4.4.2. Fitokemijski sastav

Cvjetni pupoljci biljne vrste *Magnolia officinalis* sadrže magnolol i honokiol, bifenolne spojeve supstituirane propenilnim postraničnim lancima (slika 14) te kamfor (Chinese Pharmaceutical Industry Co., 2016; Tang i Eisenbrand, 1992).



Slika 14. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Magnoliae officinalis* flos.

4.4.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

U tradicionalnoj kineskoj medicini biljna droga *Magnoliae officinalis* flos se koristi kao stomahik (Tang i Eisenbrand, 1992).

4.4.4. Farmakološki učinci

Farmakološko djelovanje biljne droge *Magnoliae officinalis* flos vrlo je slabo istraženo, no postoji mnogo studije koje potvrđuju blagotvorno djelovanje njenih aktivnih sastavnica na ljudsko zdravlje.

Djelovanje na probavni sustav

Utjecaj magnolola i honokiola in intestinalnu sekreciju istražen je na miševima kojima je prouzročena dijareja sa enterotoksigenom *E. coli* (ETEC). Primjenjeni intragastički u dozama 100, 300 i 500 mg/kg, magnolol i honokiol su uzrokovali o dozi-ovisno povećanje koncentracija Cl^- i K^+ iona, povećanje ekspresije kalmodulina-1, kalijevih kanala visoke propusnosti aktiviranih kalcijem ($\text{BK}\alpha 1$ i $\text{BK}\beta 3$) te smanjenje ekspresije receptora za inositol 1,4,5-trifosfat (IP_3), protein kinaze (PKC), kalijevih kanala niske ili male propusnosti aktiviranih kalcijem (SK_1 , SK_2 , SK_3 , SK_4) i $\text{BK}\beta 4$. Razine alfa i beta podjedinice kalmodulin-ovisne protein kinaze II ($\text{CaMKII}\alpha$, $\text{CaMKII}\beta$), rananodinskih receptora 1, IP_3 receptora 2, IP_3 receptora 3, $\text{BK}\beta 1$ and $\text{BK}\beta 2$ nisu promijenjene. Rezultati su razjasnili da ti

spojevi inhibiraju otpuštanje kalcijevih iona iz staničnih skladišta, blokiraju SK kanale aktivacijom CaM i učinkovito inhibiraju PKC kinazu što potiče otvaranje BK α 1 i BK β 3 kanala te zatvaranje BK β 4 kanala koji reguliraju intestinalnu sekreciju (Deng i sur., 2015).

Djelovanje na mikrosomalne enzime

Svrha ovog ispitivanja bilo je ispitati *in vitro* inhibitorni učinak magnolola (MN) i honokiola (HN) na humane odnosno animalne enzime citokrom P450 (CYP) 1A2, 2A6, 2D6, 3A4, 2E1 i 2C9. MN je inhibirao štakorski CYP1A2 i humani CYP3A4 uz IC₅₀ vrijednost od 10,0 i 56,2 μ mol/L. HN je inhibirao štakorski CYP1A2 i CYP2E1, humani CYP1A2 i CYP3A4 uz IC₅₀ vrijednosti od 12,1, 12,6, 17,8, i 43,9 μ mol/L. HN je umjereni ili slabi inhibitor humanog CYP1A2. MN i HN zajedno su vrlo slabi inhibitori ostalih humanih CYP izoformi. Rezultati pokazuju da je vjerojatnost od značajnih metaboličkih interakcija vrlo niska ukoliko se neki lijek koji je supstrat istog CYP enzima primjeni istovremeno s MN ili HN (Duan i sur., 2015).

Antioksidativno djelovanje

Antioksidativna svojstva magnolola i honokiola su ispitana korištenjem niza eksperimentalnih sustava (sposobnost redukcije peroksinitrita i superoksidnog anionskog radikala, obezbojenja β -karotena u emulziji linolne kiseline, hvatanja ABTS⁺ i DPPH slobodnih radikala te inhibicije oksidacije DNA). Rezultati ukazuju na snažnije antioksidativno djelovanje honokiola i sugeriraju da bi niska antioksidativna svojstva magnolola mogla biti povezana s intramolekularnom vodikovom vezom nastalom između di-orto-hidroksilnih skupina, koja je spriječila da vodikov atom bude prenesen na slobodne radikale (Zhao i Liu, 2016).

Protutumorsko djelovanje

Kontrakcije glatkog mišića i rast prostate su važne mete za farmakološku terapiju simptoma donjeg urinarnog trakta (LUTS) u oboljelih od benigne hiperplazije prostate. Znanstvenici su utvrdili da honokiol (100 μ M) značajno smanjuje kontrakcije prostate uzrokovane adrenalinom i fenilefrinom, ali je slabije djelovao kod električki uzrokovanih kontrakcija. U WPMY-1 stanica, honokiol je uzrokovao apoptozu unutar 24 sata. Magnolol (100 μ M) nije utjecao na kontrakcije niti vijabilnost stanica (Herrmann i sur., 2014).

Ateroprotektivno djelovanje

Povećana proliferacija i migracija stanica vaskularnih glatkih mišića (VSMC) značajno doprinose nastajanju aterosklerotskih i restenotskih lezija. Istraživanja su pokazala da

magnololo snažno inhibira VSMC migraciju bez utjecaja na MMP ekspresiju. Također inhibira ekspresiju β 1-integrina, FAK fosforilaciju i aktivaciju RhoA i Cdc42 te tako sprječava nastanak stresnih vlakana. *In vivo* je potvrđeno da magnolol inhibira ekspresiju β 1-integrina, odlaganje kolagena tipa 1 i FAK fosforilaciju u ozlijeđenoj karotidnoj arteriji bez učinka na MMP-2 aktivnost. Zaključak je da se ateroprotektivno djelovanje magnolola temelji na sprječavanju VSCM migracije i nastajanje neointime inhibicijom remodeliranja citoskeleta (Karki i sur., 2013).

Antidepresivno djelovanje

Sve više dokaza upućuju da je atrofija glija stanica bitan patofiziološki i patogenetski čimbenik depresije. Studije pokazuju da je magnolol glavna sastavnica vrste *Magnolia officinalis* odgovorna za antidepresivni učinak te primjenu u liječenju i drugih mentalnih bolesti na Istoku. Na animalnom modelu ustanovljeno je da izlaganje blagom kroničnom stresu smanjuje bihevioralnu aktivnost, a naknadna primjena magnolola (20, 40 mg/kg) i fluoksetina (20 mg/kg) značajno je umanjila simptome depresije. Liječenje s magnololom je učinkovito povisilo vrijednosti mRNA za glijalni fibrilarni kiseli protein (GFAP) i koncentraciju proteina u štakora. GFAP je važan za interakciju između astrocita i neurona potičući stvaranje astrocitnih ekstenzija pa time i međustaničnu komunikaciju (Weinstein i sur., 1991). Rezultati potvrđuju antidepresivne učinke magnolola koji primarno djeluje zaustavljajući i poništavajući glialnu atrofiju *in vivo* (Li i Yang, 2013).

Antiagregacijsko djelovanje

Aktivacija α , β/δ , i γ izoformi PPAR receptora ima dokazanu ulogu u inhibiciji agregacije trombocita. Studija je pokazala da je za antiagregacijska svojstva magnolola zaslužan upravo PPAR signalni put. Magnolol (20–60 μ M) je, ovisno o dozi, pojačao aktivnost i unutarstaničnu razinu PPAR β/γ u trombocitima. U prisutnosti selektivnog PPAR- β ili PPAR- γ antagonista inhibicija agregacije trombocita magnololom i intracelularna mobilizacija Ca^{2+} je značajno poništena. Štoviše, magnololom povećana stimulacija NO/cGMP/PKG signalnog puta i Akt fosforilacija koja dovodi do povećanja katalitičke aktivnosti eNOS je potpuno prekinuta ako se blokira aktivnost PPAR- β/γ . Magnolol je značajno inhibirao aktivaciju PKC α kolagenom preko PPAR- β/γ . Formacija tromboksana B₂ i povećanje aktivnosti COX-1 uzrokovano AA su također izrazito oslabjeli djelovanjem magnolola. Svi navedeni učinci magnolola na trombocite su snažno reducirani istovremenim dodatkom antagonista, ukazujući da je za antiagregacijski učinak odgovoran mehanizam posredovan PPAR- β/γ . Slično tome,

dodatak PPAR- β/γ antagonista značajno je blokirao učinak magnolola u inhibiranju formacije tromba i produžio vrijeme krvarenja u miša (Shih i Chou, 2012).

Protuupalno djelovanje

Istraživanja su pokazala da magnolol i honokiol imaju snažno protuupalno djelovanje i povoljno djeluj na kožu. Kako bi se poboljšala njihova permeacija metoksilacijom je modificirana struktura oba spoja i uspoređivana permeacija i apsorpcija svih spojeva kroz kožu. Superoksidni anion i elastaza otpušteni iz humanih neutrofila poslužili su kao biomarkeri protuupalne moći permeanata. Topikalno primijenjeni magnolol i honokiol u neograničenoj dozi (7.5 mM) pokazali su akumulaciju u koži u vrijednostima od 0,22 i 0,16 nmol/mg. Metoksilacija je značajno poboljšala njihovu permeaciju kroz kožu. Količine dimetilmagnolola i dimetilhonokiola nakupljene u koži su bile 15 i 7 puta veće od količina magnolola i honokiola. Suprotno tome, transdermalna penetracija kroz kožu se smanjila metoksilacijom. Nije došlo do transdermalnog prijenosa dimetilhonokiola. Relativni slijed protuupalne moći je honokiol > 2-O-metilmagnolol > dimetilhonokiol > magnolol. Magnolol i honokiol su pokazali blago citotoksično djelovanje na keratinocyte te uzrokovali poremećaje stratum corneuma. Sedmodnevna primjena metoksiliranih permeanata, posebice dimetilhonokiola, nije uzrokovala iritaciju kože. Metoksilirani magnolol i honokiol mogu biti učinkoviti i sigurni kandidati za liječenje upalnih bolesti kože (Lin i sur., 2013).

MAGNOLIJIN CVIJET

Magnoliae officinalis flos

DEFINICIJA

Napareni i osušeni, zatvoreni cvijet vrste *Magnolia officinalis* Rehder et E.H. Wilson.

Sadržaj: najmanje 0,20 posto magnolola ($C_{18}H_{18}O_2$; Mr 266,3) i honokiola ($C_{18}H_{18}O_2$; Mr 266,3) zajedno (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Druge *Magnolia* vrste. Tankoslojna kromatografija (2.2.27).

Ispitivana otopina. Biljna droga se usitni u prašak (710) (2.9.12), izbjegavajući zagrijavanje. Uzme se 0,5 grama praškaste biljne droge i doda 2,5 mL *metanola R*. Sonicira se 15 minuta na snazi od 80 W i frekvenciji od 37 kHz (vrijeme soniciranja može se prilagoditi korištenoj snazi i frekvenciji soniciranja), potom centrifugira 10 minuta na 1500-2000 g i supernatant se prenese u tikvicu od 5 mL. Ostatku se doda 2 mL *metanola*, sonicira 15 minuta i centrifugira. Supernatant se prenese u istu tikvicu od 5 mL. Sadržaj se razrijedi do 5 mL s *metanolom R*. Ukoliko je potrebno filtrira se kroz membranski filter (nominalna veličina pora 0,45 µm).

Poredbena otopina. Otopi se 1 mg *honokiola R*, 1 mg *magnolola R* i 2 mg *eugenola R* u 4 mL *metanola R*.

Ploča: TLC silikagel F_{254} ploča *R* (2-10 µm).

Pokretna faza: *metanol R*, *etilacetat R*, *toluen R* (1:5:30 V/V/V).

Nanošenje: 8 µL u linijama duljine 8 mm.

Razvijanje: u visini od 7 cm.

Sušenje: na zraku.

Detekcija: ispituje se pod ultraljubičastim svjetlom na 365 nm.

Rezultati: kromatogram ispitivane otopine ne pokazuje plavu zonu fluorescencije na donjem dijelu ploče, ni zelenu zonu fluorescencije na gornjem dijelu ploče niti bilo koju drugu zonu fluorescencije.

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 11,0 posto, određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (710) (2.9.12) sušenjem 2 sata u sušioniku na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 8,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Tekućinska kromatografija (2.2.29).

Ispitivana otopina. Biljna droga se usitni u prašak (710) (2.9.12) korištenjem miksera s oštricama i komorom s dvostrukim stjenkama ohlađenu na temperaturu od 10 °C. Pomiješa se 0,500 g praškaste biljne droge s 10 mL *metanola R*. Sonicira se 1 sat pri snazi od 80 W i frekvenciji od 37 kHz (vrijeme soniciranja može se prilagoditi primijenjenoj snazi i frekvenciji soniciranja). Nakon 30 minuta soniciranja promijeni se voda u ultrazvučnoj kupelji da se spriječi zagrijavanje. Sadržaj se centrifugira 15 minuta na 1500-2000 g. Supernatant se prenese u tikvicu od 20,0 mL. Ostatku se doda 9,5 mL *metanola R*. Ponovi se soniciranje u trajanju od 1 sat. Nakon 30 minuta soniciranja promijeni se voda u ultrazvučnoj kupelji da se spriječi zagrijavanje. Centrifugira se i supernatant prenese u istu tikvicu od 20,0 mL. Nakon hlađenja sadržaj se razrijedi do 20,0 mL s *metanolom R*. Filtrira se kroz membranski filter (nominalna veličina pora 0,45 µm).

Poredbena otopina (a). Otopit se 5,0 mg *honokiola CRS* u *metanolu R* i razrijedi do 5,0 mL s istim otapalom. Razrijedi se 1,0 mL te otopine do 25,0 mL s *metanolom R*.

Poredbena otopina (b). Otopi se 6,0 mg *magnolola CRS* u *metanolu R* i razrijedi do 20,0 mL s istim otapalom.

Poredbena otopina (c). Otopi se 2,0 mg *honokiola CRS* u 2 mL *acetonitrila R*. Doda se 30 µL *octenog anhidrida R* i promiješa. Sadržaj se grije 60 minuta na 50 °C te ohladi. Potom se dodaje redom, miješajući nakon svakog dodavanja, 32 µL *koncentriranog amonijaka R*, 2,0 mL *acetonitrila R* i 4,0 mL *vode R*. Filtrira se kroz membranski filter (nominalna veličina pora 0,45 µm).

Kolona:

- *veličina:* l = 0,15 m, Ø = 4,6 mm;
- *nepokretna faza:* modificirani oktadecilsilil amorfni organosilikatni polimer R (3,5 µm).
- *temperatura:* 25 ± 2 °C.

Pokretna faza:

- *pokretna faza A:* anhidrična mravlja kiselina R, *voda R* (0,1:99,9 V/V);
- *pokretna faza B:* acetonitril za kromatografiju R;

| Vrijeme (min) | Pokretna faza A (posto V/V) | Pokretna faza B (posto V/V) |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0 – 20 | 47 | 53 |
| 20 – 22 | 47 → 5 | 53 → 95 |
| 22 – 27 | 5 | 95 |

Brzina protoka: 1,0 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 292 nm.

Injektiranje: 20 µL.

Relativno zadržavanje s obzirom na honokiol (vrijeme zadržavanja = oko 10 minuta):
 magnolol = oko 1,3; honokiol monoacetat izomer 1 = oko 1,4; honokiol monoacetat izomer 2 = oko 1,5; honokiol diacetat = oko 1,9.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (c):

- *razlučivanje*: najmanje 2,0 između pikova honokiol monoacetat izomera 1 i 2.

Ukoliko je potrebno, razrijedi se ispitivana otopina da se dobiju pikovi honokiola i magnolola koji su slične visine odgovarajućim pikovima u poredbenim otopina (a) i (b).

Izračuna se zbroj postotaka honokiola i magnolola koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times 0,16 \times p_1 \times d}{A_2 \times m_1} + \frac{A_3 \times m_3 \times p_2 \times d}{A_4 \times m_1}$$

A_1 = površina pika honokiola na kromatogramu ispitivane otopine;

A_2 = površina pika honokiola na kromatogramu poredbene otopine (a);

A_3 = površina pika magnolola na kromatogramu ispitivane otopine;

A_4 = površina pika magnolola na kromatogramu poredbene otopine (b);

m_1 = masa biljne droge korištena za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

m_2 = masa *honokiola CRS* korištena za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

m_3 = masa *magnolola CRS* korištena za pripremu poredbene otopine (b), u gramima;

p_1 = postotni udio honokiola u *honokiol CRS*;

p_2 = postotni udio magnolola u *magnolol CRS*;

d = faktor razrijeđenja ispitivane otopine.

4.5. Sophorae japonicae flos (Huaihua, 槐花)

Sophorae japonicae flos (eng. Sophora flower) (slika 15) je kineska ljekovita droga koju čine osušeni cvjetovi biljne vrste *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott (sin. *Sophora japonica* L.) (slika 16) .



Slika 15. Sophorae japonicae flos.

4.5.1. Opis biljke

Styphnolobium japonicum (L.) Schott je listopadno stablo iz porodice mahunarki (Fabaceae). Naraste do 20 m u visinu tvoreći široku i gustu krošnju. Grane su elastične, otporne i dosta razgranate. Listovi su naizmjenični, neparno perasti, sastavljeni od 7-21 duguljasto jajastih liski. Liske imaju zašiljen vrh, na licu su tamnozeleni, a na naličju svjetliji. Cvjetovi su sitni, bijeli, blago mirisni, skupljeni u velike metličaste cvatove (Slika 16). Cvatu u srpnju i kolovozu u trajanju oko 2-3 tjedna. Plod je viseća mahuna. Prirodno je rasprostranjena na području Kine.

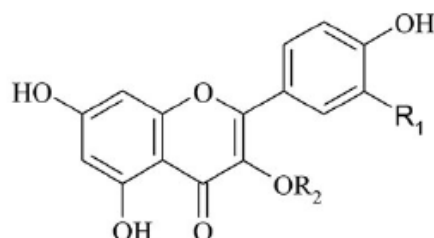


Slika 16. *Styphnolobium japonicum* (L.)

(preuzeto s www.kew.org)

4.5.2. Fitokemijski sastav

Droga *Sophorae japonicae* flos sadrži **flavonoide** (rutin (oko 6%), kvercetin i kemferol te njihove glikozide), genistein i druge **izoflavonoide**, **triterpenoide** (soforadiol, sojasapogenol i betulinglikozidi) i disaharide (soforozu = 2-O- β -D-glukopiranozil-D-glukoza) (slika 17) (Wagner i sur., 2011).

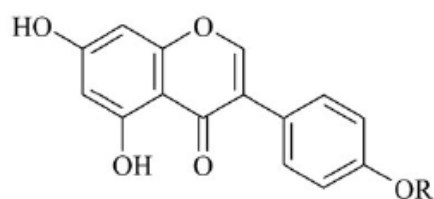


Kvercetin: R1 = OH; R2 = H

Kemferol: R1 + R2 = H

Rutin: R1 = OH; R2 = rutinozil-(1 \rightarrow 6-ramnoglukožil)

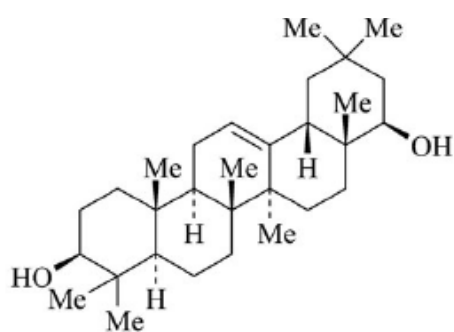
Kemferol-3-O-soforozid: R1 = H; R2 = soforozil-(1 \rightarrow 2-glukožil)



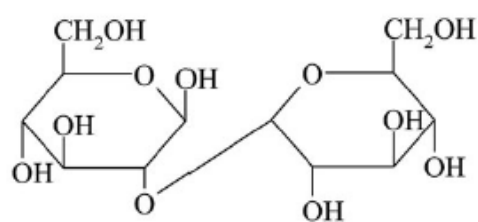
Genistein: R = H

Soforikozid: R = 4'-O-glukožil

Soforabiozid: R = 4'-O-(1 \rightarrow 2)-ramnoglukožil



Soforadiol



Soforoza

Slika 17. Glavne bioaktivne sastavnice droge *Sophorae japonicae* flos.

4.5.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

U tradicionalnoj kineskoj medicini, cvjetovi biljne vrste *Sophora japonica* (L.) koriste se za zaustavljanje različitih vanjskih i unutarnjih krvarenja poput hemoroidalnog krvarenja, krvave dizenterije, abnormalnog uterinog krvarenja, hematemeze, epistaksije (spontano krvarenje iz nosa), crvenila očiju te kod glavobolje i vrtoglavice (Wagner i sur., 2011).

4.5.4. Farmakološki i klinički učinci

Farmakološki učinci droge *Sophorae japonicae flos* pripisuju se flavonoidnim sastavnicama rutinu i kvercetin te izoflavonoidima koji pokazuju široki spektar učinaka poput protuupalnog, antibakterijskog, antiviralnog, antiosteoporoznog, antioksidativnog, hipoglikemičkog, protutumorskog i hemostatskog (He i sur., 2016).

Djelovanje na krvožilni sustav

Osušeni cvjetovi i pupoljci biljne vrste *Sophora japonica* (Huaihua) se koriste u Kini za liječenje različitih oblika krvarenja. Primjenjen oralna tijekom pet dana ekstrakt japanske sofore smanjio je permeabilnost kapilara, vrijeme krvarenja i koagulacijsko vrijeme u miševa kao i protrombinsko vrijeme u štakora što dokazuje hemostatsko djelovanje te biljne droge. Kvercetin izoliran iz vodenog ekstrakta cvjetova japanske sofore djeluje antihemoragijski stabilizirajući integritet kapilara. Također je ustanovljeno da djeluje antiagregacijski tako što inhibira nakupljanje slobodnih kalcijevih iona u trombocitima. Izoramnetin izoliran iz iste droge pokazao je antihemostatski učinak kao rezultat povećanja kapilarne permeabilnosti i smanjene agregacije trombocita (Chen i Hsieh, 2010).

Provedena je prospektivna, dvostruko slijepa, randomizirana studija kojom se željela ispitati klinička sigurnost i učinkovitost primjene droge *Sophore japonicae flos* u liječenju simptomatskih hemoroida i uporediti s placebo. Nakon sedmodnevnog liječenja uočeno je poboljšanje kliničke slike u 87% pacijenata koji su koristili cvijet japanske sofore, dok je u kontrolnoj (placebo) skupini poboljšanje uočeno u 82% pacijenata. Nakon 14 dana, 78% pacijenata liječenih biljnom drogom nije pokazivalo nikakve simptome bolesti, dok je u kontrolnoj skupini 41% pacijenata pokazivalo ostalne simptome, no razlika među skupinama nije bila statistički značajna. Kako se peristaltika crijeva i probava u pacijenata popravljala dok su koristili sjedeće kupke, tako su se i simptomi bolesti značajno smanjivali, neovisno o tretmanu. Dobiveni rezultati upućuju na to da je tradicionalna kineska ljekovita formula s cvijetom japanske sofore klinički sigurna, no njena učinkovitost na hemoroide treba biti

ispitana na većem broju bolesnika i u različitim doziranjima. Postojeći rezultati studije mogu biti potencijalna klinička referenca za primjenu u pacijenata sa simptomatskim hemoroidima (Man i sur., 2012).

Administracija dekokta biljne vrste *Sophora japonica* u jugularnu venu kunića smanjila je kontraktilnost srčanog mišića i brzinu rada srca što upućuje na njenu sposobnost da smanji potrebu za kisikom i djeluje kardioprotektivno (Chen i Hsieh, 2010).

Antioksidativno djelovanje

Brojne *in vitro* studije izvještavaju o antioksidativnom djelovanju rutina i drugih flavonoidnih sastavnica biljne droge *Sophorae japonicae flos*. Ma i suradnici (2007) otkrili su da flavonoidni spojevi iz vrste *Sophora japonica* neutraliziraju superoksidni anion i 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) slobodne radikale. Polisaharidi iz te biljke također djeluju antiradikalno i uklanjaju hidroksilne i superoksidne slobodne radikale (Wang i sur., 2008). Kvercetin se pokazao učinkovitijim od rutina u zaštiti kunićevih eritrocita s visokim i niskim sadržajem kolesterola od lipidne peroksidacije uzrokovane slobodnim radikalima. Afanasev i suradnici (1995) otkrili su da rutin u kompleksu sa željezom inhibira konverziju superoksidnog aniona u hidroksilni radikal pod normalnim i željezom zasićenim uvjetima u štakora. Kang i sur. (2008) izvjestili su da je irizolidon spriječio lipidnu peroksidaciju, oštećenje DNK i apoptozu potaknutu vodikovim peroksidom u plućnim fibroblastima.

Stvaranje reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva (ROS i RNS) igralo je ključnu ulogu u oštećenju mozga za vrijeme reperfuzije koja je uslijedila nakon ishemije. Oštećenje mozga zbog ROS-a uključuje metabolički prijenos signala između mitohondrija, enzima koji popravljaju DNA i transkripcijskih faktora dovodeći do apoptoze. Antioksidativne sastavnice biljnih ekstrakata, poput kvercetina i rutina, doprinose neuroprotektivnom učinku pružajući zaštitu od slobodnih radikala, unaprjeđujući pamćenje i smanjujući neuronsku smrt uzrokovanu cerebralnom ishemijom. Rutin je smanjio ozljedu tijekom reperfuzije uklanjanjem slobodnih radikala (Chen i Hsieh, 2010).

Protuupalno djelovanje

Mikroglia stanice su aktivirane različitim tipovima oštećenja mozga poput ishemije i upale. Ta aktivacija je ukazivala na ozbiljnost neuronalnog oštećenja u štakora s MCAo. Razine IL-1 β , proinflamatornog citokina eksprimiranog primarno u glia stanicama kao što su astrociti, oligodendrociti i mikroglia, povećane su nakon fokalne cerebralne ishemije što je smanjilo

infiltraciju leukocitima i tako pospješilo neuronalno oštećenje i edem mozga. *Sophora japonica* je inhibirala mikroglijalnu aktivaciju, otpuštanje interleukin-1 β (IL-1 β) i apoptozu u štakora s prolaznom MCAo ukazujući na to da smanjuje upalu i sprečava neuronsko odumiranje. Znanstveno je dokazano da suplementacija rutinom 10-20 dana nakon administracije trimetiltina (TMT) smanjuje ekspresiju IL-1 β u mikroglija stanicama hipokampusa, ukazujući da rutin može zaštititi neurone od oštećenja uzrokovanih TMT-om (Chen i Hsieh, 2010).

Učinak na metabolički sindrom

Istraživanja provedena na životinjskim modelima s deficijencijom enzima protein kinaze ovisne o cAMP-u (AMPK) upućuju na njegovu značajnu ulogu u patofiziologiji i terapiji dijabetesa i pretilost. Dobiveni rezultati indirektno pokazuju da AMPK aktivacija može inhibirati diferencijaciju preadipocita. Štoviše, aktivatori AMPK značajno inhibiraju diferencijaciju adipocita, blokiraju ekspresiju adipogenih markera (poput sintaze masnih kiselina i nekih transkripcijskih faktora kao PPAR γ , SREBP1c, and C/EBP α), potiču apoptozu i unos glukoze u stanice. Stoga se smatra da bi pronalaženje spojeva koji aktiviraju AMPK signalni put moglo značajno unaprijediti terapiju dijabetesa tipa 2 i pretilosti (Ha i sur., 2016). Fitokemijskim je istraživanjima iz etilacetatne i butanolne frakcije ekstrakta droge *Sophorae flos* izolirano 9 flavonoida, identificiranih kao kemferol, kemferol-3-glukozid, kvercetin, kvercetin-3-glukozid, kvercetin-5-glukozid, rutin, narcisin, kamelianozid, kvercetin-3-glukozil-(1 \rightarrow 3)-ramnozil-(1 \rightarrow 6)-glukozid. Posljedni navedeni spoj je u dozi od 10 μ M pokazao visoku potentnost fosforilacije AMPK i njenog supstrata ACC u 3T3-L1 stanicama te je potaknuo unos glukoze u stanice. Suprotan učinak zabilježen je kod AMPK inhibitora koji koči sve učinke kvercetinskog glikozida na fosforilaciju i inhibiciju ekspresije adipogenih markera, što upućuje na važnu ulogu AMPK signalnog slijeda u mehanizmu djelovanja tog spoja. Također je dokazano da smanjuje diferencijaciju preadipocita tako što blokira adipogenu konverziju i sintezu transkripcijskih faktora poput PPAR γ , C/EBP α , i SREBP1 u 3T3-L1 stanicama, a reducirao je i ekspresiju FAS gena koji je važana za adipogenezu (Ha i sur., 2016).

CVIJET JAPANSKE SOFORE

Sophorae japonicae flos

DEFINICIJA

Osušeni, otvoreni cvijet vrste *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott (sin. *Sophora japonica* L.).

Sadržaj:

- najmanje 8,0 posto ukupnih flavonoida, izraženo kao rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$; M_r 611) (suha droga).
- najmanje 6,0 posto rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$; M_r 611) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Strane primjese (2.8.2): najviše 5 posto cvjetnih pupova i najviše 2 posto drugih stranih tvari.

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 11,0 posto, određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem 2 sata u sušioniku na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 9,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Ukupni flavonoidi

Temeljna otopina. 2,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) stavi se u tuljac za kontinuiranu ekstrakciju (aparatus tipa Soxhleta). Doda se 100 mL *heptana R* i zagrijava ispod povratnog hladila dok ekstrakcijska tekućina ne postane bezbojna. Nakon hlađenja heptan se odbaci. Doda se 90 mL *metanola R* i nastavi ekstrakcija zagrijavanjem pod povratnim hladilom sve dok ekstrakcijska tekućina ne postane bezbojna. Pusti se ohladiti. Metanolna otopina prenese se u volumetrijsku tikvicu od 100 mL. Ekstrakcijska tikvica ispere se s nekoliko mililitara *metanola R*. Metanolne otopine se sjedine i razrijede do 100 mL s *metanolom R*. Uzme se 10,0 mL te otopine i razrijedi do 100,0 mL s *vodom R* te snažno promućka.

Ispitivana otopina. Razrijedi se 10,0 mL temeljne otopine do 100,0 mL s otopinom *aluminijeva klorida R* u *metanolu R* koncentracije 20 g/L.

Poredbena otopina. Razrijedi se 10,0 temeljne otopine do 100,0 mL s metanolom R.

Apsorbancija (2.2.25) ispitivane otopine mjeri se nakon 15 minuta na 425 nm u odnosu na poredbenu otopinu.

Postotak ukupnih flavonoida, izraženih kao rutin, izračuna se korištenjem sljedećeg izraza:

$$\frac{A \times 1000}{m \times 37}$$

uzevši da je specifična apsorbancija rutina 370.

A = apsorbancija ispitivane otopine na 425 nm;

m = masa ispitivane biljne droge, u gramima.

Rutin. Tekućinska kromatografija (2.2.29).

Ispitivana otopina. 0,500 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) stavi se u koničnu tikvicu i doda 50,0 mL metanola R. Sadržaj se izvaže sonicira 30 minuta i ostavi ohladiti. Važe se i nadomjesti gubitak otapala s metanolom R. Snažno se promućka, filtrira i razrijedi 2,0 mL filtrata do 10,0 mL s metanolom R.

Poredbena otopina (a). Otopi se 10,0 mg rutozid trihidrata CRS u 2 mL metanola R i razrijedi do 10,0 mL s 50-postotnom V/V otopinom metanola R. Uzme se 2,0 mL te otopine i razrijedi do 10,0 mL s 50-postotnom V/V otopinom metanola R.

Poredbena otopina (b). Otopi se 10,0 mg apigenin-7-glukozida CRS i 10,0 mg rutina R u 2 mL metanola R i razrijedi do 10,0 mL s 50-postotnom V/V otopinom metanola R. Uzme se 2,0 mL te otopine i razrijedi do 10,0 mL s 50-postotnom V/V otopinom metanola R.

Kolona:

- veličina: 1 = 0,25 m, Ø = 4,6 mm;

- nepokretna faza: oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R (5 µm).

Pokretna faza:

- pokretna faza A: 1-postotna V/V otopina ledene octene kiseline R;

- pokretna faza B: metanol R;

| Vrijeme (min) | Pokretna faza A (posto V/V) | Pokretna faza B (posto V/V) |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0 – 5 | 68 | 32 |
| 5 – 20 | 68 → 50 | 32 → 50 |
| 20 – 30 | 50 → 0 | 50 → 100 |
| 30 – 35 | 0 | 100 |

Brzina protoka: 1,3 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 350 nm.

Injektiranje: 20 µL.

Relativno zadržavanje s obzirom na rutin (vrijeme zadržavanja = oko 17 minuta): apigenin 7-glukozid = oko 1,1.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (b):

- razlučivanje: najmanje 1,5 između pikova rutina i apigenin-7-glukozida.

Izračuna se postotak sadržaja rutina koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 5}{A_2 \times m_1}$$

A₁ = površina pika rutina u kromatogramu ispitivane otopine;

A₂ = površina pika rutina u kromatogramu poredbene otopine (a);

m₁ = masa ispitivane biljne droge korištena za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

m₂ = masa rutozid trihidrata CRS korištena za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

p = postotni udio rutina u rutozid trihidratu CRS.

4.6. Sophorae japonicae flos immaturus (Huaimi, 槐米)

Sophorae japonicae flos immaturus (eng. Sophora flower-bud) (slika 18) je kineska ljekovita droga koju čine osušeni cvjetni pupoljci biljne vrste *Styphnolobium japonicum* (L) Schott (sin. *Sophora japonica* L) (slika 16).



Slika 18. Sophorae japonicae flos immaturus.

4.6.1. Opis biljke

Styphnolobium japonicum (L.) Schott je listopadno stablo iz porodice mahunarki (Fabaceae). Naraste do 20 m u visinu tvoreći široku i gustu krošnju. Grane su elastične, otporne i dosta razgranate. Listovi su naizmjenični, neparno perasti, sastavljeni od 7-21 duguljasto jajastih liski. Liske imaju zašiljen vrh, na licu su tamnozeleni, a na naličju svjetliji. Cvjetovi su sitni, bijeli, blago mirisni, skupljeni u velike metličaste cvatove (slika 16). Cvatu u srpnju i kolovozu u trajanju oko 2-3 tjedna. Plod je viseća mahuna. Prirodno je rasprostranjena na području Kine.

4.6.2. Fitokemijski sastav

Cvjetni pupovi biljne vrste *Sophora japonica* L. bogati su **flavonoidima** (rutin, kvercetin i kemferol te njihovi glikozidi, genistein te drugi izoflavoni i njihovi glikozidi). Sadržaj glavne djelatne sastavnice, rutina, dvostruko je veći nego u otvorenim cvjetovima. Droga sadrži i triterpenoide (soforadiol, sojasapogenolglikozid, betulinglikozidi) te disaharid soforozu (2-O- β -D-glukopiranozil-D-glukoza) u podjednakom udjelu kao i *Sophorae japonicae flos* (slika 17) (Wagner i sur., 2011).

4.6.3. Uporaba i djelovanje u TCM-u

Biljna droga *Sophorae japonicae flos immaturus* se, jednako kao i droga *Sophorae japonicae flos*, u TCM-u koristi za zaustavljanje različitih unutarnjih i vanjskih krvarenja, kao što su hematokezija, hemoroidalno krvarenje, krvava dizenterija, abnormalno uterino krvarenje, hematemeza (povraćanje krvi), epistaksija (spontano krvarenje iz nosa), crvenilo očiju te kod glavobolje i vrtoglavice (Wagner i sur., 2011).

4.6.4. Farmakološki učinci

Cvjetni pupoljci vrste *Sophora japonica* pokazuju iste farmakološke učinke kao i otvoreni cvjetovi te biljne vrste (poglavlje 4.5.4.). S obzirom da je kvalitativan sastav droga istovjetan, no sadržaj glavnih djelatnih flavonoida dvostruko veći u cvjetnih pupoljaka nego otvorenih cvjetova, farmakološki učinci droge *Sophorae japonicae flos immaturus* jače su izraženi. Flavonoidne sastavnice droge u brojnim su studijama pokazale snažno antioksidativno djelovanje, protektivno djelovanje na krvožilni sustav, hepatoprotektivno, antitumorsko i protuupalno djelovanje (Kumar i Pandey, 2013).

CVJETNI PUPOLJAK JAPANSKE SOFORE

Sophorae japonicae flos immaturus

DEFINICIJA

Cijeli, osušeni cvjetni pupoljak vrste *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott (sin. *Sophora japonica* L.).

Sadržaj:

- najmanje 20,0 posto ukupnih flavonoida, izraženo kao rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$; M_r 611) (suha droga).
- najmanje 15,0 posto rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$; M_r 611) (suha droga).

IDENTIFIKACIJA

- A. Makroskopska obilježja
- B. Mikroskopska obilježja
- C. Tankoslojna kromatografija

ISPITIVANJA

Strane primjese (2.8.2): najviše 5 posto otvorenih cvjetova i najviše 2 posto drugih stranih tvari.

Gubitak sušenjem (2.2.32): najviše 11,0 posto, određeno na 1,000 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) sušenjem 2 sata u sušioniku na 105 °C.

Ukupni pepeo (2.4.16): najviše 9,0 posto.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Ukupni flavonoidi

Temeljna otopina. Staviti 1,00 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) u kontinuirani ekstrakcijski aparat (Soxhlet tip). Dodati 100 mL *heptana R* i zagrijavati ispod povratnog hladila dok ekstrakcijska tekućina ne postane bezbojna. Pustiti da se ohladi i odbaciti heptan. Dodati 90 mL *metanola R* i kontinuirano ekstrahirati zagrijavanjem ispod povratnog hladila dok ekstrakcijska tekućina ne postane prozirna. Pustiti da se ohladi. Prebaciti metanolnu otopinu u volumetrijsku tikvicu od 100 mL. Isprati ekstrakcijsku tikvicu s nekoliko mililitara *metanola R*. Spojiti metanolne otopine i razrijediti do 100 mL s *metanolom R*. Razrijediti 10,0 mL ove otopine do 100,0 mL s *vodom R* i snažno promiješati.

Ispitivana otopina. Razrijediti 10,0 mL temeljne otopine do 100,0 mL s otopinom *aluminijeva klorida R* u *metanolu R* masene koncentracije 20 g/L.

Kompenzacijska otopina. Razrijediti 10,0 temeljne otopine do 100,0 mL s metanolom R.

Izmjerite apsorbanciju (2.2.25) ispitivane otopine na 425 nm nakon 15 min usporedbom s kompenzacijskom otopinom.

Izračuna se postotak ukupnih flavonoida, izraženo kao rutin, koristeći sljedeću formulu:

$$\frac{A \times 1000}{m \times 37}$$

Za specifičnu apsorbanciju rutina uzme se vrijednost 370.

A = apsorbancija ispitivane otopine na 425 nm;

m = masa biljne droge uzeta u ispitivanje, u gramima.

Rutin. Tekućinska kromatografija (2.2.29).

Ispitivana otopina. Staviti 0,200 g praškaste biljne droge (355) (2.9.12) u koničnu tikvicu i dodati 50,0 mL *metanola R*. Vagnuti, sonicirati 30 min i pustiti da se ohladi. Vagnuti ponovo i nadoknaditi gubitak otapala s *metanolom R*. Snažno promiješati, filtrirati i razrijediti 2,0 mL filtrata do 10,0 mL s *metanolom R*.

Poredbena otopina (a). Otopiti 10,0 mg *rutozid trihidrata CRS* u 2 mL *metanola R* i razrijediti do 10,0 mL s 50 postotnom V/V otopinom *metanola R*. Razrijediti 2,0 mL te otopine do 10,0 mL s 50 postotnom V/V otopinom *metanola R*.

Poredbena otopina (b). Otopiti 10,0 mg *apigenin 7-glukozida CRS* i 10,0 mg *rutina R* u 2 mL *metanola R* i razrijediti do 10,0 mL s 50 postotnom V/V otopinom *metanola R*. Razrijediti 2,0 mL te otopine do 10,0 mL s 50 postotnom V/V otopinom *metanola R*.

Kolona:

- *veličina:* l = 0,25 m, Ø = 4,6 mm;
- *nepokretna faza:* *oktadecilsilil silikagel za kromatografiju R* (5 µm).

Pokretna faza:

- *pokretna faza A:* 1 postotna V/V otopina *ledene octene kiseline R*;
- *pokretna faza B:* *metanol R*;

| Vrijeme (min) | Pokretna faza A (posto V/V) | Pokretna faza B (posto V/V) |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0 – 5 | 68 | 32 |
| 5 – 20 | 68 → 50 | 32 → 50 |
| 20 – 30 | 50 → 0 | 50 → 100 |
| 30 – 35 | 0 | 100 |

Brzina protoka: 1,3 mL/min.

Detekcija: spektrofotometar na 350 nm.

Injektiranje: 20 µL.

Relativno zadržavanje s obzirom na rutin (vrijeme zadržavanja = oko 17 min): *apigenin 7-glukozid* = oko 1,1.

Prikladnost sustava: poredbena otopina (b):

- *razlučivanje:* najmanje 1,5 između pika rutina i apigenin 7-glukozida.

Izračuna se postotak rutina koristeći sljedeći izraz:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 5}{A_2 \times m_1}$$

A_1 = površina pika rutina na kromatogramu ispitivane otopine;

A_2 = površina pika rutina na kromatogramu poredbene otopine (a);

m_1 = masa biljne droge korištena za pripremu ispitivane otopine, u gramima;

m_2 = masa *rutozid trihidrata CRS* korištena za pripremu poredbene otopine (a), u gramima;

p = pripisani postotak sadržaja rutina u *rutozid trihidratu CRS*.

5. ZAKLJUČAK

Ovim radom proširena su znanja o šest odabranih ljekovitih biljnih droga s dugom tradicijom primjene u kineskoj medicini. Istraživane biljne vrste počele su se primjenjivati u samoukoj narodnoj medicini, a danas su dio službene ljekarničke prakse i to ne samo u azijskim zemljama, već su sve prisutnije i u Europi.

Kroz rad su definirane ljekarničke droge *Carthami flos*, *Ephedrae herba*, *Magnoliae officinalis flos*, *Sophorae japonicae flos* i *Sophorae japonicae flos immaturus* te utvrđena morfološka obilježja biljnih vrsta od kojih se one dobivaju. Detaljno je proučen fitokemijski sastav svake kineske biljne droge i istaknute glavne sastavnice odgovorne za farmakološko djelovanje. Provedena istraživanja ukazuju da tradicionalna primjena pojedinih kineskih droga kod nekih indikacija ima uporište utemeljeno na znanstvenim dokazima. Međutim, unatoč njihovoj širokoj primjeni kineskih u Kini i na Zapadu, za sve istraživane biljne droge još uvijek nedostaje kliničkih dokaza koji bi neosporno potvrdili djelotvornost i sigurnu primjenu u ljudi. Ukoliko i postoje, razina kliničkih dokaza koji podupiru tradicionalnu primjenu kineskih biljnih pripravaka najčešće nije dostatna. Problem pri proučavanju tradicionalne kineske medicine predstavlja činjenica da je znatan broj nekliničkih i kliničkih studija proveden u Kini i objavljen u nacionalnim znanstvenim časopisima na kineskom jeziku, tako da metodologija istraživanja i dobiveni rezultati nisu lako dostupni zapadnim zajednicama. Nadalje, istraživanja u tom području ponekad su vrlo zahtjevna i složena budući da se često radi o višekomponentnim biljnim pripravcima sastavljenim u skladu s načelima koja se uvelike razlikuju od onih zapadne medicine.

Rezultati ovog rada omogućuju usvajanje novih znanja iz aktualnog područja tradicionalne kineske medicine i tako doprinose praćenju suvremenih trendova u fitofarmaciji u Hrvatskoj. Isto tako oni i ukazuju na snažnu potrebu za daljnjim i opsežnijim znanstvenim istraživanjima kineskih ljekovitih biljnih vrsta, ne samo u svrhu utvrđivanja opravdanosti primjene kod pojedinih tradicionalnih indikacija, već i s ciljem otkrivanja novih potencijalnih lijekova koji bi u budućnosti mogli pomoći u borbi protiv raznih bolesti.

6. LITERATURA

- Ando I, Tsukumo Y, Wakabayashi T, Akashi S, Miyake K, Kataoka T, Nagai K. Safflower polysaccharides activate the transcription factor NF- κ B via Toll-like receptor 4 and induce cytokine production by macrophages. *Int Immunopharmacol*, 2002, 1155–1162.
- Afanas'ev IB, Ostrachovitch EA, Abramova NE, Korkina LG. *Biochem Pharmacol*, 1995, 627-635.
- Astrup A, Madsen J, Holst JJ, Christensen NJ. The effect of chronic ephedrine treatment on substrate utilization, the sympathoadrenal activity, and energy expenditure during glucose-induced thermogenesis in man. *Metab*, 1986, 260-265.
- Astrup A, Toubro S. Thermogenic, metabolic, and cardiovascular responses to ephedrine and caffeine in man. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1993, 41-43.
- Arch JR, Ainsworth AT, Cawthorne MA. Thermogenic and anorectic effects of ephedrine and congeners in mice and rats. *Life Sci*, 1982, 1817-1826.
- Barker WD, Antia UA. Study of the use of Ephedra in the manufacture of methamphetamine. *Forensic Sci Int*, 2007, 102-109.
- Beinfeld H, Efrem E. *Između neba i Zemlje: Vodič kroz tradicionalnu kinesku medicinu*. Zagreb, Planetopija, 2011.
- Brand E, Wiseman N. Concise Chinese Materia Medica. Brooklyn, Paradigm Publications, 2008.
- Carey A, Pajtak R, Formosa M. Chronic ephedrine administration decreases brown adipose tissue activity in a randomised controlled human trial: Implications for obesity. *Diabetologia*, 2015, 1045–1054.
- Caron MF, Dore DD, Min B, Kluger J, Boguk I, White CM. Electrocardiographic and blood pressure effects of the ephedra-containing TrimSpa thermogenic herbal compound in healthy volunteers. *Pharmacoth*, 2006, 1241-1246.
- Caveney S, Starratt A. Glutamatergic signals in Ephedra. *Nat*, 1994, 372-509.
- Chang HM i sur. Advances in Chinese Medicinal Materials Research. *Singapore: W Sci*, 1985, 559-580.

- Chang JM, Hung LM, Chyan YJ, Cheng YM, Wu RY. *Carthamus tinctorius* enhances the antitumor activity of dendritic cell vaccines via polarization toward Th1 cytokines and increase of cytotoxic T lymphocytes. *Evid-Based Compl Altern Med*, 2011, 48–58.
- Chen YS, Lee SM, Lin CC, Liu CY, Wu MC, Shi WL. Kinetic study on the tyrosinase and melanin formation inhibitory activities of carthamus yellow isolated from *Carthamus tinctorius* L. *J Biosci Bioeng*, 2013, 242–245.
- Chen L, Xiang YX, Kong LJ, Zhang XM, Sun BZ, Wei XB, Liu HQ. Hydroxysafflor yellow A protects against cerebral ischemia–reperfusion injury by anti-apoptotic effect through PI3K/Akt/GSK3b pathway in rat. *Neurochem Res*, 2013, 2268–2275.
- Chen HN, Hsieh CL. Effects of *Sophora japonica* flowers (Huaihua) on cerebral infarction. 2010.
- Chen YS, Lee SM, Lin CC, Liu CY, Wu MC, Shi WL. Kinetic study on the tyrosinase and melanin formation inhibitory activities of carthamus yellow isolated from *Carthamus tinctorius* L. *J Biosci Bioeng*, 2013, 242–245.
- Chen HN, Hsieh CL. Effects of *Sophora japonica* flowers (Huaihua) on cerebral infarction. *Chin Med*, 2010, 34.
- Chor SY, Hui AY, To KF, Chan KK, Go YY, Chan HL, Leung WK, Sung JJY. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of herbal medicine on hepatic stellate cell. *J Ethnopharmacol*, 2005, 180–186.
- Choi EM, Kim GH, Lee YS. *Carthamus tinctorius* flower extract prevents H₂O₂-induced dysfunction and oxidative damage in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Phytother Res*, 2010, 1037–1041.
- Chinese Pharmaceutical Industry Co., 2016, <http://www.spec-g.com/newherb/HerbDetail.aspx?HID=09125&CID=FL>, pristupljeno 10.9.2016.
- Coffey C, Steiner D, Baker B, Allison D. A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial of a product containing ephedrine, caffeine, and other ingredients from herbal sources for treatment of overweight and obesity in the absence of lifestyle treatment. *Int J Obes Rel Metab Dis: J Int Assoc Stud Obes*, 2004, 1411–1419.
- Cui JF, Niu CQ, Zhang, JS. Determination of six *Ephedra* alkaloids in Chinese *Ephedra* (Ma Huang) by gas chromatography. *Yao Xue Xue Bao*, 1991, 26(11), 852-857.

- Deng Y, Han X, Tang S. Magnolol and honokiol regulate the calcium-activated potassium channels signaling pathway in diarrhea mice. *Eur J Pharmacol*, 2015, 755, 766-773.
- Diasio RB, Harris BR. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet*, 1989, 215–252.
- Duan J, Xiao J, Chen Y, Han F. Inhibition of Magnolol and Honokiol on Cytochrome P450 enzymes in rat and human liver microsomes. *Chin Her Med*, 2015, 167-172.
- EDQM, European Pharmacopoeia. Eight Edition (Ph Eur 8.0), Council of Europe, Strasbourg, 2014, 1231-1232, 1236-1237, 1304-1305, 1386-1388.
- EDQM, European Pharmacopoeia. Eight Edition (Ph Eur 8.1), Council of Europe, Strasbourg, 2014, 3705-3706.
- Ephedra (*Ephedra sinica*), 2010, <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/nutrition-research/learning-center/plant-profiler/ephedra-sinica.html>, pristupljeno 7.9.2016.
- FDA. Adverse events with Ephedra and other botanical dietary supplements. *FDA medical bulletin*, 1994, 24:3.
- Feng N, Li YK, Tang J, Zhou L, Guo H, Han J, Wang BR, Guo DA. cDNA-AFLP analysis on transcripts associated with hydroxysafflor yellow A(HSYA) biosynthetic pathway in *Carthamus tinctorius*. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 971–980.
- Fitzpatrick D, Purves D, Augustine G. *Neuroscience* (3. izd.). Sunderland, Sinauer Associates, 2004.
- Friedrich H, Wiedemeyer H. Quantitative determination of the tannin-precursors and the tannins in *Ephedra helvetica*. *Planta Med*, 1976, 223-231.
- Fu JH, Zhang Q, Fan CZ, Liu JG. Protective effect of intravenous infusion injection of safflor yellow and hydroxyl safflor yellow A on acute myocardial ischemia injury in rats. *Int J Tradit Chin Med*, 2011, 692–694.
- Gan L, Wang ZH, Ma CJ, Li G. Protective effects of hydroxysafflor yellow A on brain injury in mice irradiated by 300 MeV/u ¹²C⁶⁺ ions. *Nucl Sci Technol*, 2012, 624–629.
- Goodman LS, Gilman A. The pharmacological basis of therapeutics, 8th ed. New York, MacMillan, 1993, str. 213–214.

- Griffith RK, Johnson EA. Adrenergic drugs, in Principles of Medicinal chemistry. 1995, 345–365.
- Guoyi, Bavadekar SA, Davis YM. Pharmacological effects of Ephedrine alkaloids on human α 1- and α 2-Adrenergic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Th*, 2007, 214–221.
- Gurley BJ, Gardner SF, White LM, Wang PL. Ephedrine pharmacokinetics after the ingestion of nutritional supplements containing *Ephedra sinica* (ma huang). *Ther Drug Monit* 1998, 439-445.
- Gurley BJ, Wang P, Gardner SF. Ephedrine-type alkaloid content of nutritional supplements containing *Ephedra sinica* (Ma-huang) as determined by high performance liquid chromatography. *J Pharm Sci*, 1998, 1547-1553.
- Ha DT, Trung TN, Phuong TT, Yim N, Chen QC, Bae K. The selected flavonol glycoside derived from Sophorae Flos improves glucose uptake and inhibits adipocyte differentiation via activation AMPK in 3T3-L1 cells. *Bio & Med Chem Let*, 2016, 6076-6081.
- Han SY, Li HX, Ma X, Zhang K, Ma ZZ, Tu PF. Protective effects of purified safflower extract on myocardial ischemia in vivo and in vitro. *Phytomedicine*, 2009, 694–702.
- Han SY, Li HX, Ma X, Zhang K, Ma ZZ, Tu PF. Evaluation of the anti-myocardial ischemia effect of individual and combined extracts of *Panax notoginseng* and *Carthamus tinctorius* in rats. *J Ethnopharmacol*, 2013, 722–727.
- Han ZQ, Ba TDLG, Na RS, Eerdengbilige EDBLG. Research on influences of Mongolian medicine deduhonghua-7 powder on SOD, MDA and Na-K-ATPase activity in liver tissue of rat with chronic liver injury. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2013, 1076–1078.
- Han CK, Tien YC, Jine-Yuan Hsieh D, Ho TJ, Lai CH, Yeh YL, Hsuan Day C, Shen CY, Hsu HH, Lin JY, Huang CY. Attenuation of the LPS-induced, ERK-mediated upregulation of fibrosis-related factors FGF-2, uPA, MMP-2, and MMP-9 by *Carthamus tinctorius* L in cardiomyoblasts. *Environ Toxicol*, 2016, doi: 10.1002/tox.22275.
- He X, Bai Y, Zhao Z. Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of L.: A review. *J of Ethnopharmacol*, 2016, 160–182.
- Hempen CH, Fischer T. A Materia Medica for Chinese medicine: Plants, minerals, and animal products. Elsevier, Munich, 2009.

- Herrmann D, Schreiber A, Ciotkowska A, Strittmatter F, Waidelich R, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M. Honokiol, a constituent of *Magnolia* species, inhibits adrenergic contraction of human prostate strips and induces stromal cell death. *Prostate Int*, 2014, 140-146.
- Hikino H, Konno C, Takata H, Tamada M. Antiinflammatory principle of Ephedra Herbs. *Chem Pharm Bull Tokyo*, 1980, 2900-2904.
- Hiramatsu M, Takahashi T, Komatsu M, Kido T, Kasahara Y. Antioxidant and neuroprotective activities of Mogami-benibana (Safflower, *Carthamus tinctorius* Linne). *Neurochem Res*, 2009, 795–805.
- Hotta Y, Nagatsu A, Liu W, Muto T, Narumiya C, Lu XL, Yajima M, Ishikawa N, Miyazeki K, Kawai N, Mizukami H, Sakakibara J. Protective effects of antioxidative serotonin derivatives isolated from safflower against postischemic myocardial dysfunction. *Mol Cell Biochem*, 2002, 151–162.
- HRVATSKA ENCIKLOPEDIJA, 2016., <http://www.enciklopedija.hr>, pristupljeno 5.6.2016.
- Huang JL, Fu ST, Jiang YY, Cao YB, Guo ML, Wang Y, Xu Z. Protective effects of nicotiflorin on reducing memory dysfunction, energy metabolism failure and oxidative stress in multi-infarct dementia model rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 2007, 741–748.
- Ji DB, Zhu MC, Zhu B, Zhu YZ, Li CL, Ye J, Zhu HB. Hydroxysafflor yellow A enhances survival of vascular endothelial cells under hypoxia via upregulation of the HIF-1 α -VEGF pathway and regulation of Bcl-2/Bax. *J Cardiovasc Pharm*, 2008, 191–202.
- Ji DB, Zhang LY, Li CL, Ye J, Zhu HB. Effect of hydroxysafflor yellow A on human umbilical vein endothelial cells under hypoxia. *Vasc Pharmacol*, 2009, 137–145.
- Jiang JS, He J, Feng ZM, Zhang PC. Two new quinochalcons from the florets of *Carthamus tinctorius*. *Org Lett*, 2010, 1196–1199.
- Jolly V, Johnny M. Efficacy studies of hepatoprotective drug isolated from *Eclipta prostrata*. L. *J Pharm Bio Sci*, 2013, 44–47.
- Jun MS, Ha YM, Kim HS, Jang HJ, Kim YM, Lee YS, Kim HJ, Seo HG, Lee JH, Lee SH, Chang KC. Anti-inflammatory action of methanol extract of *Carthamus tinctorius* involves in heme oxygenase-1 induction. *J Ethnopharmacol*, 2011, 524–530.

- Kalix P. The pharmacology of psychoactive alkaloids from ephedra and catha. *J Ethnopharmacol*, 1991, 201-208.
- Kanehira T, Takekoshi S, Nagata H, Osamura RY, Homma T. Kinobeaon A as a potent tyrosinase inhibitor from cell culture of safflower: in vitro comparisons of kinobeaon A with other putative inhibitors. *Planta Med*, 2003, 465–479.
- Kanehira T, Takekoshi S, Nagata H, Matsuzaki K, Kambayashi Y, Osamura RY, Homma T. A novel and potent biological antioxidant, kinobeaon A, from cell culture of safflower. *Life Sci*, 2003, 87–97.
- Kang KA, Zhang R, Piao MJ, Ko DO, Wang ZH, Kim BJ, Park JW, Kim HS, Kim DH, Hyun JW. Protective effect of irisolidone, a metabolite of kakkalide, against hydrogen peroxide induced cell damage via antioxidant effect. *Bioorg Med Chem*, 2008, 1133-1141.
- Karki R, Kim SB, Kim DW. Magnolol inhibits migration of vascular smooth muscle cells via cytoskeletal remodeling pathway to attenuate neointima formation. *Exp Cell Res*, 2016, 3238-3250.
- Kim HJ, Cho YD, Leem KH, Lee DN, Kim EH, Kim MG, Kim DK, Shin TY, Boo Y, Lee JH, Kim HK. Effects of ephedrae herba on melanogenesis and gene expression profiles using cDNA microarray in B16 melanocytes. *Phytother Res*, 2006, 748-754.
- Kim DI, Lee SH, Hong JH. The butanol fraction of (Linn) increases the formation of brain acetylcholine and decreases oxidative stress in the brain and serum of cesarean-derived rats. *Nut Res*, 2010, 579-584.
- Kong SZ, Shi XG, Feng XX, Li WJ, Liu WH, Chen ZW, Xie JH, Lai XP, Zhang SX, Zhang XJ, Su ZR. Inhibitory effect of hydroxysafflor yellow A on mice skin photoaging induced by UV irradiation. *Rejuven Res*, 2013, 404–413.
- Kong SZ, Xian YF, Ip SP, Lai XP, Shi XG, Lin ZX, Su ZR. Protective effects of hydroxysafflor yellow A on β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Neurochem Res*, 2013, 951–960.
- Krinsky D, Ferreri S, Hemstreet B, Hume A, Newton G, Rollins C, Tietze K. Handbook of non-prescription drugs, 8th ed. Washington, DC, American Pharmaceutical Association, 1986.

- Kumar S, Pandey AK, Corporation HP. Chemistry and biological activities of Flavonoids: An overview. *The Sci W Journ*, 2013.
- La VD, Labrecque J, Grenier D. Cytoprotective effect of proanthocyanidin-rich cranberry fraction against bacterial cell wall-mediated toxicity in macrophages and epithelial cell. *Phytother Res*, 2009, 1449–1452.
- Large V, Hellström L, Reynisdottir S. Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. *J Clin Inv*, 1997, 3005–3013.
- Lee JS, Ahn JH, Cho YJ. A-terthienylmethanol induces apoptosis by generating reactive oxygen species via NADPH oxidase in human endometrial cancer cells. *J Ethnopharmacol*, 2015, 169, 426-434.
- Lee MK, Ha NR, Yang H, Sung SH, Kim GH, Kim YC. Antiproliferative activity of triterpenoids from on hepatic stellate cells. *Phytomed*, 2008, 775-780.
- Li YH, Wang NS. Antithrombotic effects of Danggui, Honghua and potential drug interaction with clopidogrel. *J Ethnopharmacol*, 2010, 623–628.
- Li HX, Han SY, Wang XW, Ma X, Zhang K, Wang L, Ma ZZ, Tu PF. Effect of the carthamins yellow from *Carthamus tinctorius* L. on hemorheological disorders of blood stasis in rats. *Food Chem Toxicol*, 2009, 1797–1802.
- Li LF, Yang J, Shi-Ping, Qu R. Magnolol treatment reversed the glial pathology in an unpredictable chronic mild stress-induced rat model of depression. *Eur J Pharmacol*, 2013, 4249.
- Li RP, Guo ML, Zhang G, Xu XF, Li Q. Neuroprotection of nicotiflorin in permanent focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *Biol Pharm Bull*, 2006, 1868–1872.
- Li RP, Guo ML, Zhang G, Xu XF, Li Q. Nicotiflorin reduces cerebral ischemia damage and upregulates endothelial cultured rat cerebral blood vessel endothelial cells. *J Ethnopharmacol*, 2006, 143–150.
- Li Y, Zhang G, Guo ML. Assaying of HSYA in safflower and its injection. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2005, 587–588.

- Li YK, Wang ZJ, Chang H, Wang Y, Guo ML. Expression of CT-wpr, screened by cDNA-AFLP approach, associated with hydroxysafflor yellow A in *Carthamus tinctorius* L. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 1148–1155.
- Liles JT, Dabisch PA, Hude KE, Pradhan L, Varner KJ, Porter JR, Hicks AR, Corll C, Baber SR, Kadowitz PJ. Pressor responses to ephedrine are mediated by a direct mechanism in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 95–105.
- Lin CF, Hwang TL, Al-Suwayeh SA, Huang YL, Hung YY, Fang JY. Maximizing dermal targeting and minimizing transdermal penetration by magnolol/honokiol methoxylation. *Int J Pharmaceut*, 2013, 153-162.
- Ling M, Piddlesden SJ, Morgan BP. A component of the medicinal herb ephedra blocks activation in the classical and alternative pathways of complement. *Clin Exp Immunol*, 1995, 582-588.
- Liu QM, Zhao HY, Zhong XK, Jiang JG. Phytochemicals: Isolation, structure elucidation, and their antitumor activity. *Food Chem Toxicol*, 2016, 4016-4022.
- Liu YM, Sheu SJ. Determination of Ephedrine alkaloids by capillary electrophoresis. *J Chromatog* 1992, 370-372.
- Liu YM, Sheu SJ, Chiou SH. A comparative study on commercial samples of Ephedrae herba. *Planta Med*, 1993, 376-378.
- Liu N, Yang YY, Mo SW, Liao JL, Jin JN. Calcium antagonistic effects of Chinese crude drugs: preliminary investigation and evaluation by ⁴⁵Ca. *Appl Radiat Isot*, 2005, 151–155.
- Liu BB, Luo C, Ouyang LS, Mu SH, Zhu YX, Li KY, Zhan ML, Liu ZW, Jia Y, Lei WL. An experimental study on the effect of safflower yellow on tendon injury-repair in chickens. *J Surg Res*, 2011, 175–184.
- Liu XH, Li LQ, Lu WH, Lai CL. Effect of safflow yellow treatment on ET, MMP-9, hs-CRP and platelet aggregation rate of patients with coronary heart disease. *Chin J Integr Med Cardio-/Cerebrovasc Dis*, 2011, 1036–1037.
- Liu WC, Lai MT, Chen HY, Ho CY, Man KM, Shen JL, Lee YJ, Tsai FJ, Chen YH, Chen WC. Protective effect of Flos carthami extract against ethyleneglycol-induced urolithiasis in rats. *Urol Res*, 2012, 655–661.

- Liu XM, Sun L, Liang H, Sun GR, Chen Y. The effects of hydroxysafflor yellow A on PPAR α expression in glutamate-induced neuron damage. *Zhong Guo Xian Dai Shen Jing Bing Za Zhi*, 2012, 330–336.
- Loo WTY, Cheung MNB, Chow LWC. The inhibitory effect of a herbal formula comprising ginseng and *Carthamus tinctorius* on breast cancer. *Life Sci.*, 2004, 191–200.
- Lu CY, Tu YY. Effect of hydroxysafflor yellow A on the expression of TLR4 in callus osteoblasts, endothelial cells, macrophages. *Chin J Inform TCM*, 2012, 90–91.
- Ma LH, He JP, Qin WD, Wang P, Liu HY. Study on anti-oxidative activities of pogodatree flower (*Robinia Pseudocacia*) extracts. *Food Sci*, 2007, 75–77.
- Man KM, Chen WC, Wang HM, Chen HY, Shen JL, Chen LD, Tsai FJ, Chen YH, Yu DX, Chiang FF. A Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a Chinese herbal Sophora flower formula in patients with symptomatic Haemorrhoids: A preliminary study. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2012, 343–351.
- Minamizawa K, Goto H, Shimada Y, Terasawa K, Haji A. Effects of eppikahangeto, a Kampo formula, and Ephedrae herba against citric kiselina-induced laryngeal cough in guinea pigs. *J Pharmacol Sci*, 2006, 118–125.
- Nie PH, Zhang L, Zhang WH, Rong WF, Zhi JM. The effects of hydroxysafflor yellow A on blood pressure and cardiac function. *J Ethnopharmacol*, 2012, 746–750.
- Pan Y, Zheng DY, Liu SM, Meng Y, Xu HY, Zhang Q, Gong J, Xia ZL, Chen LB, Li HY. Hydroxysafflor yellow A attenuates lymphostatic encephalopathy-induced brain injury in rats. *Phytother Res*, 2012, 1500–1506.
- PCMPH (Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health) P.R.China. A Coloured Atlas of the Chinese Materia Medica specified in Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 1995.
- Qin Z, Wang XF, Ye H, Zheng XB. Effects of hydroxysafflor yellow A on nerve regeneration of the organotypic hippocampal slices from neonatal SD rats. *Shi Zhen Guo Yi Guo Yao*, 2012, 1856–1858.
- Qin Z, Wang XF, Ye H, Zheng XB. Effects of hydroxysafflor yellow A on neurogenesis in a rat model of oxygen-glucose deprivation in hippocampal slice cultures. *Int J Cerebrovasc Dis*, 2012, 263–268.

- Qiu J. Traditional medicine: A culture in the balance. *Nature*, 2007, 448, 126-128.
- Ramsey JJ, Colman RJ, Swick AG, Kemnitz JW. Energy expenditure, body composition, and glucose metabolism in lean and obese rhesus monkeys treated with ephedrine and caffeine. *Am J Clin Nutr*, 1998, 42-51.
- Rothman RB, Vu N, Partilla JS, Roth BL, Hufeisen SJ, Compton-Toth BA, Birkes J, Young R, Glennon RA. In vitro characterization of ephedrine-related stereoisomers at biogenic amine transporters and the receptorome reveals selective action as norepinephrine transporter substrates. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 138–145.
- Rothman RB, Vu N, Partilla JS, Roth BL, Hufeisen SJ, Compton-Toth BA, Birkes J, Young R, Glennon RA. In vitro characterization of ephedrine-related stereoisomers at biogenic amine transporters and the receptorome reveals selective action as norepinephrine transporter substrates. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 138–145.
- Shan LQ, Ma S, Qiu XC, Zhou Y, Zhang Y, Zheng YH, Ren PC, Wang YC, Fan QY, Ma BA. Hydroxysafflor yellow A protects spinal cords from ischemia/reperfusion injury in rabbits. *BMC Neurosci*, 2010, 720–725.
- Shih CY, Chou TC. The antiplatelet activity of magnolol is mediated by PPAR- β/γ . *Biochem Pharmacol*, 2012, 793-803.
- Song LJ, Zhu Y, Jin M, Zang BX. Hydroxysafflor yellow A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory signal transduction in human alveolar epithelial A549 cells. *Fitoterapia*, 2013, 107–114.
- Sophora. <http://www.itmonline.org/arts/sophora.htm>. Pristupljeno 5.6.2016.
- Sun L, Yang L, Fu Y, Han J, Xu YW, Liang H, Cheng Y. Capacity of HSYA to inhibit nitrotyrosine formation induced by focal ischemic brain injury. *Nitric Oxide*, 2013, 144–151.
- Sun CY, Pei CQ, Zang BX, Wang L, Jin M. The ability of HSYA to attenuate lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammatory injury in mice. *Phytother Res*, 2010, 1788–1795.
- Tang W, Eisenbrand G. Chinese drugs of plant origin, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1992, 639.

- Tang J, Lou ZY, Wang Y, Guo ML. Expression of a small heat shock protein (CTL-hsyap) screened by cDNA-AFLP approach is correlated with hydroxysafflor yellow A in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) *Biochem Syst Ecol*, 2010, 722–730.
- Tavakkol-Afshari J, Brook A, Mousavi SH. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. *Food Chem Toxicol*, 2008, 3443–3447.
- Tian JW, Li GS, Liu ZF, Fu FH. Hydroxysafflor yellow A inhibits rat brain mitochondrial permeability transition pores by a free radical scavenging action. *Pharmacology*, 2008, 121–126.
- Tien YC, Lin JY, Lai CH, Kuo CH, Lin WY, Tsai CH, Tsai FJ, Cheng YC, Peng WH, Huang CY. *Carthamus tinctorius* L. prevents LPS-induced TNF α signaling activation and cell apoptosis through JNK1/2-NF κ B pathway inhibition in H9c2 cardiomyoblast cells. *J Ethnopharmacol*, 2010, 505–513.
- The Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM. Medicinal Plants in China. *WHO Reg Pub*, 1989.
- Traditional Chinese Medicine: An Introduction, 2009, <https://nccih.nih.gov/health/whatiscam/chinesemed.htm?lang=en>, pristupljeno 5.6.2016.
- Tu Y, Xue Y, Guo D, Sun L, Guo M. A review of its ethnopharmacology, pharmacology and clinical applications. *Rev Bras Farmacogn*, 2015, 553-566.
- Vansal SS, Feller DR. Direct effects of ephedrine isomers on human beta-adrenergic receptor subtypes. *Biochem Pharmacol*, 1999, 807–810.
- Wagner H, Bauer R, Melchart D, Xiao PG, Staudinger A. *Chrom Fing A Herb Med*, 2011.
- Wang GZ, Hikokichi O. Experimental study in treating chronic renal failure with dry extract and tannins of herba ephedra. *Chin J Int Trad and West Med*, 1994, 485-488.
- Wang M, Franz G. The Role of the European Pharmacopoeia (Ph Eur) in Quality Control of Traditional Chinese Herbal Medicine in European Member States. *World J Tradit Chin Med*, 2015, 1-15.
- Wang T, Fu FH, Han B, Li GS, Zhang LM, Liu K. Hydroxysafflor yellow A reduces myocardial infarction size after coronary artery ligation in rats. *Pharm Biol*, 2009, 458–462.

- Wang CC, Choy CS, Liu YH, Cheah KP, Li Jimmy JS, Wang TJ, Yu WY, Lin CW, Chenga HW, Hu CM. Protective effect of dried safflower petal aqueous extract and its main constituent, carthamus yellow, against lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW264.7 macrophages. *J Sci Food Agric*, 2010, 218–225.
- Wang CY, Ma HM, Zhang SP, Wang YF, Liu JT, Xiao YH. Safflor yellow B suppresses pheochromocytoma cell (PC12) injury induced by oxidative stress via antioxidant system and Bcl-2/Bax pathway. *N-Sarch Pharmacol*, 2009, 135–142.
- Wang L, Jin M, Zang BX, Wu Y. Inhibitory effect of safflor yellow on pulmonary fibrosis. *Biol Pharm Bull*, 2011, 511–516.
- Wang XH, Qin YL, Yan T. Pharmacological research progress of Honghua injection. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2011, 109–110.
- Wang T, Fu FH, Han B, Li GS, Zhang LM, Liu K. Hydroxysafflor yellow A reduces myocardial infarction size after coronary artery ligation in rats. *Pharm Biol*, 2009, 458–462.
- Wang CY, Ma HM, Zhang SP, Wang YF, Liu JT, Xiao XH. Safflor yellow B suppresses pheochromocytoma cell (PC12) injury induced by oxidative stress via antioxidant system and Bcl-2/Bax pathway. *N-Sarch Pharmacol*, 2009, 135–142.
- Wang LH, Duan YF, Ma YL, Ding HJ, Li EC. Studies on extraction and antioxidant function of polysaccharides from sophora japonica. *J Northwest A & F (Nat Sci Ed)*, 2008, 213–218.
- Weinstein DE, Shelanski ML, Liem RK. Suppression by antisense mRNA demonstrates a requirement for the glial fibrillary acidic protein in the formation of stable astrocytic processes in response to neurons. *J Cell Bio*, 1991, 1205–1213.
- Wellman PJ, Miller DK, Ho DH. Noradrenergic modulation of ephedrine-induced hypophagia. *Synapse*, 2003, 18–24.
- WHO (World Health Organization). WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Geneva, 1999.
- Williams A, Cribb P, Cooke M, Hayes A. The effect of ephedra and caffeine on maximal strength and power in resistance-trained athletes. *J strength cond res / Nat Str Cond Assoc*, 2008, 464–470.

- Wu ZY, Jia YL, Zhao FR, Li P, Yi YL. Proliferation inhibition and induced differentiation effects of carthamin on Leukemic cells. *An Hui Nong Ye Ke Xue*, 2012, 5165–5166.
- Wu Y, Wang L, Jin M, Zang BX. Hydroxysafflor yellow A alleviates early inflammatory response of bleomycin-induced mice lung injury. *Biol Pharm Bull*, 2012, 515–522.
- Xi SY, Zhang Q, Liu CY, Xie H, Yue LF, Gao XM. Effects of hydroxy safflower yellow-A on tumor capillary angiogenesis in transplanted human gastric adenocarcinoma BGC-823 tumors in nude mice. *J Tradit Chin Med*, 2012, 243–248.
- Yang Q, Yang ZF, Liu SB, Zhang XN, Hou Y, Li XQ, Wu YM, Wen AD, Zhao MG. Neuroprotective effects of hydroxysafflor yellow A against excitotoxic neuronal death partially through down-regulation of NR2B-containing NMDA receptors. *Neurochem Res*, 2010, 1353–1360.
- Yen TT, McKee MM, Bemis KG. Ephedrine reduces weight of viable žuto obese mice. *Life Sci*, 1981, 119-128.
- Yeom MJ, Lee HC, Kim GH, Lee HJ, Shim I, Oh SK, Kang SK, Hahm DH. Anti-arthritis effects of *Ephedra sinica* STAPF herb-acupuncture: inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammation and adjuvant-induced polyarthritis. *J Pharmacol Sci*, 2006, 41-50.
- Yu L, Chen C, Wang LF, Kuang X, Liu K, Zhang H, Du JR. Neuroprotective effect of kaempferol glycosides against brain injury and neuroinflammation by inhibiting the activation of NF- κ B and STAT3 in transient focal stroke. *PLOS ONE*, 2013.
- Zarrindast MR, Hosseini-Nia T, Farnoodi F. Anorectic effect of ephedrine. *Gen Pharmacol*, 1987, 559-561.
- Zhang Z, Sun X, Wang L, Liu H, Lu Q. Comparison of two extraction methods for maxingshigan decoction. *Chin J Integ Trad West Med*, 1997, 413-415, 447.
- Zhang ZZ, Guo ML, Zhang JD. Identification of AFLP fragments linked to hydroxysafflor yellow A in Flos Carthami and conversion to a SCAR marker for rapid selection. *Mol Breeding*, 2009, 229–237.
- Zhang G, Guo ML, Li RP, Li Y, Zhang HM, Su ZW. A novel compound from Flos Carthami and its bioactivity. *Chem Nat Compd*, 2009, 398–401.

- Zhang YB, Dong HY, Zhao XM, Fan L, Zou Y, Zhang C, Li G, Liu JC, Niu YC. Hydroxysafflor yellow A attenuates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats by inhibiting Erk5 signaling. *Am J Chin Med*, 2012, 481–494.
- Zhang XL, Cheng X, Liu Y, Shi XK. Effects of safflower polysaccharide on gene transcription and protein expression of Bcl-2 and Bax in human hepatocarcinoma cell line SMMC-7721. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 239–244.
- Zhang L, Yue YH, Chen YC, Yang GZ, Li XR. Study on the type I allergic reaction of safflower injection. *Chin Hosp Pharm J.*, 2012, 1319–1321.
- Zhao Y, Peng L, Lu W. Effect of on lipid metabolism in hyperlipidemic animals. *Exp Gerontol*, 2015, 37-44.
- Zhao C, Liu ZQ. Comparison of antioxidant abilities of magnolol and honokiol to scavenge radicals and to protect DNA. *Biochimie*, 2016, 1755-1760.
- Zhao G, Zheng XW, Gai Y, Chu WJ, Qin GW, Guo LH. Safflower extracts functionally regulate monoamine transporters. *J Ethnopharmacol*, 2009, 116–124.
- Zhao G, Gai Y, Chu WJ, Qin GW, Guo LH. A novel compound N1,N5-(Z)-N10-(E)- tri-p-coumaroylspermidine isolated from *Carthamus tinctorius* L. and acting by serotonin transporter inhibition. *Eur Neuropsychopharm*, 2009, 749–758.
- Zhu H, Wang Z, Ma C, Tian J, Fu F, Li C, Guo D, Roeder E, Liu K. Neuroprotective effects of hydroxysafflor yellow A: in vivo and in vitro studies. *Planta Med*, 2003, 429–433.
- Zhu Y, Song LJ, Zang BX, Bian BL, Jin M. Study of hydroxysafflor yellow A to attenuate acute lung injury model of endothelial cell inflammatory factor expression induced by LPS. *J Cardiovasc Pulmonary Dis*, 2012, 484–487.

7. SAŽETAK/SUMMARY

Tradicionalna kineska medicina je drevni holistički sustav razvijen u Kini gdje se i danas intenzivno koristi za očuvanje zdravlja, prevenciju bolesti i liječenje, a sve je popularnija i u zapadnom svijetu. Najvećim se dijelom temelji na fitoterapiji i primjeni nekoliko stotina ljekovitih kineskih biljnih droga koje sve češće susrećemo i u europskim ljekarnama. Aktualno 8. izdanje Europske farmakopeje sadrži monografije s utvrđenim normama kakvoće za čak 43 biljne droge iz tradicionalne kineske medicine. Ovaj rad sistematično i detaljno analizira šest odabranih kineskih biljnih droga (*Carthami flos*, *Ephedrae herba*, *Magnoliae officinalis flos*, *Sophorae japonicae flos* i *Sophorae japonicae flos immaturus*) u kontekstu njihovih prirodnih izvora, fitokemijskog sastava, tradicionalne primjene i znanstvenih dokaza o djelotvornosti kao i farmakopejskih postupaka za utvrđivanje kakvoće.

Traditional Chinese medicine (TCM) is an ancient holistic system originating from China, where is widely used today for health promotion and disease prevention and treatment, gaining more popularity in western countries also. Based mainly on phytotherapy, TCM practice uses few hundreds of medicinal plants and some of them are increasingly present in European pharmacies. Currently, the latest 8th edition of the European Pharmacopoeia contains 43 monographs on traditional Chinese herbal drugs. This thesis explores and systematically processes six herbal drugs of traditional Chinese medicine (*Carthami flos*, *Ephedrae herba*, *Magnoliae officinalis flos*, *Sophorae japonicae flos* i *Sophorae japonicae flos immaturus*) in terms of their plant origin, phytochemical composition, traditional usage, scientific evidence on effectiveness as well as pharmacopoeial procedure used for quality control.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmakognoziju
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ODABRANE BILJNE DROGE TRADICIONALNE KINESKE MEDICINE – 5. DIO: CVJETOVI I ZELENİ (FLORES ET HERBAE)

Boni Butir

SAŽETAK

Tradicionalna kineska medicina je drevni holistički sustav razvijen u Kini gdje se i danas intenzivno koristi za očuvanje zdravlja, prevenciju bolesti i liječenje, a sve je popularnija i u zapadnom svijetu. Najvećim se dijelom temelji na fitoterapiji i primjeni nekoliko stotina ljekovitih kineskih biljnih droga koje sve češće susrećemo i u europskim ljekarnama. Aktualno 8. izdanje Europske farmakopeje sadrži monografije s utvrđenim normama kakvoće za čak 43 biljne droge iz tradicionalne kineske medicine. Ovaj rad sistematično i detaljno analizira šest odabranih kineskih biljnih droga (Carthami flos, Ephedrae herba, Magnoliae officinalis flos, Sophorae japonicae flos i Sophorae japonicae flos immaturus) u kontekstu njihovih prirodnih izvora, fitokemijskog sastava, tradicionalne primjene i znanstvenih dokaza o djelotvornosti kao i farmakopejskih postupaka za utvrđivanje kakvoće.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 74 stranica, 18 grafičkih prikaza i 154 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Tradicionalna kineska medicina; ljekovite biljne droge; fitokemija; farmakološki učinci; Europska farmakopeja.

Mentor: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biljana Blažeković**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Željka Vanić, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2016.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Pharmacognosy
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

SELECTED TRADITIONAL CHINESE HERBAL DRUGS – PART 5: FLOWERS AND HERBS (FLORES ET HERBAE)

Boni Butir

SUMMARY

Traditional Chinese medicine (TCM) is an ancient holistic system originating from China, where is widely used today for health promotion and disease prevention and treatment, gaining more popularity in western countries as well. Based mainly on phytotherapy, TCM practice uses few hundreds of medicinal plants and some of them are increasingly present in European pharmacies. Currently, the latest 8th edition of the European Pharmacopoeia contains 43 monographs on traditional Chinese herbal drugs. This thesis explores and systematically processes six herbal drugs of traditional Chinese medicine (*Carthami flos*, *Ephedrae herba*, *Magnoliae officinalis flos*, *Sophorae japonicae flos* i *Sophorae japonicae flos immaturus*) in terms of their plant origin, phytochemical composition, traditional usage, scientific evidence on effectiveness as well as pharmacopoeial procedure used for quality control.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 74 pages, 18 figures and 154 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Traditional chinese medicine; herbal drugs; phytochemistry; pharmacological effects; European pharmacopoeia

Mentor: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Blažeković, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sanda Vladimir-Knežević, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Željka Vanić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September, 2016.